UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1961 N° 197

VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DE TRYPANOSOMA GAMBIENSE

en culture " in vitro "

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement en Juin 1961

par

Sidi BOUKENEM

MEMBRES DU JURY

MM. BOUISSET	*Président*
BOURBON	
RUFFIE	*Assesseurs*
BREUILLAUD	

TOULOUSE
IMPRIMERIE CLÉDER
28, rue de la Pomme
1961

VARIATIONS MORPHOLOGIQUES
DE
TRYPANOSOMA GAMBIENSE
en culture " in vitro "

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548925_0093

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1961 — N° 197

VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DE TRYPANOSOMA GAMBIENSE

en culture " in vitro "

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement en Juin 1961

par

Sidi BOUKENEM

MEMBRES DU JURY

MM. BOUISSET — *Président*
BOURBON
RUFFIE — *Assesseurs*
BREUILLAUD

TOULOUSE
IMPRIMERIE CLÉDER
28, rue de la Pomme
1961

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE de MEDECINE et de PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

	MM.
DOYEN	LAZORTHES
ASSESSEUR	DELAS
Doyens honoraires	GORSE, CALVET, LEFEBVRE, BRUSTIER
Professeurs honoraires	RIBAUT, VALLOIS, CLERMONT, NANTA, DUCUING, TAPIE

SECTION MEDECINE

PROFESSEURS

	MM.
Clinique médicale	MERIEL, GADRAT
Clinique chirurgicale et gynécologique	FABRE P.
Clinique chirurgicale et du Cancer	GRIMOUD
Clinique chirurgicale infantile et Orthopédie	VIRENQUE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	BAZEX
Clinique des maladies de la Tuberculose et Pathologie interne	MOREL
Clinique des maladies des voies urinaires	LHEZ
Clinique médicale infantile et Puériculture	SOREL
Clinique de Neurologie et Psychiatrie	RISER
Clinique obstétricale	GUILHEM
Clinique odonto-stomatologique	CADENAT E.
Clinique ophtalmologique	CALMETTES
Clinique O.R.L. et de chirurgie maxillo-faciale	CALVET
Clinique traumatologique des membres	RIEUNAU
Accouchement et obstétricie sociale	PONTONNIER
Anatomie	LAZORTHES
Anatomie appliquée	POULHES
Anatomie pathologique	FABRE J.
Bactériologie, Hygiène et Médecine sociale	ANDRIEU
Chimie biologique	VALDIGUIE
Electro-Radiologie	MARQUES
Embryologie	BROUSSY
Histologie	BIMES
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DARNAUD
Médecine Légale et du Travail	PLANQUES
Médecine Sociale	BOUNHOURE
Parasitologie	BOUISSET
Pathologie chirurgicale	DAMBRIN
Pathologie générale et Médecine expérimentale	SENDRAIL
Physico-Chimie	AUVERGNAT
Physiologie appliquée et Pharmacologie	BAISSET
Physique biologique et médicale	BUGNARD
Propédeutique médicale	GERAUD
Thérapeutique	DARDENNE

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie générale et comparée	COULOUMA
Bactériologie	ENJALBERT (Mme)
Pathologie médicale	LAPORTE

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie	LAPORTE Y.
Biochimie médicale	DOUSTE-BLAZY
Physique médicale	BRU

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

	MM.
Anatomie pathologique	BOUISSOU
Histologie et embryologie	PLANEL
Parasitologie	RUFFIE J.
Physiologie	MONTASTRUC

AGREGES

	MM.
Pathologie médicale	MONNIER, RIBAUT, DELAUDE, CALAZEL
Pathologie chirurgicale	ENJALBERT, FICAT, PASQUIE, SOUQUET
Médecine légale	GREZES-RUEF
Odonto-Stomatologie	CADENAT H.
Pédiatrie	BARDIER
Rhumatologie	RUFFIE R.

AGREGES LIBRES

Anatomie	THOMAS
Ophtalmologie	DEODATI
Oto-Rhino-Laryngologie	CLAUX
Pathologie chirurgicale	DIEULAFE

SECTION PHARMACIE

PROFESSEURS

Botanique et cryptogamie	DULUCQ-MATHOU (Mme)
Chimie analytique, Toxicologie et Hygiène industrielle	BOURBON
Chimie pharmaceutique	BLANC
Histoire Naturelle	DELAS
Matière Médicale	VINCENT
Pharmacie chimique et pharmacodynamie	CAUJOLLE
Pharmacie galénique	STANISLAS

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Pharmacie	COUTURIER

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Sciences Naturelles	MEYNIER (Mlle), ROUX

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Microbiologie	BREUILLAUD
Sciences Physiques	PITET

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Secrétaire principal	ROCHE
Secrétaire	LAFFONT (M

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération du 12 mai 1891)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PERE ET A MA MERE

Leur abnégation et leur amour m'ont permis la réalisation de ce modeste travail que je dédie à leur mémoire en témoignage de piété filiale.

A MA FEMME

En témoignage de mon amour.

A MA FILLE

Notre joie.

A MES FRERES ET A MA SŒUR

En témoignage de profnde affection et de reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils se sont imposés pour mes études.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MON PAYS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE : MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUISSET

Professeur de Parasitologie,
Officier de la Légion d'honneur.

Vous nous avez fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre thèse, de nous permettre l'accès de votre laboratoire pour la réalisation de ce travail.

Tout le long de nos études, vous nous avez prodigué vos précieux conseils, base essentielle de notre formation.

Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE :

Monsieur le Professeur P. BOURBON

Professeur de Chimie analytique, Toxicologie et Hygiène Industrielle.

Nous sommes fiers d'avoir été votre élève à la Faculté et heureux d'avoir profité de la richesse et de la clarté de votre enseignement que nous avons toujours suivi avec le plus grand intérêt.

Nous garderons en outre de vous, le souvenir d'un professeur aux cours vivants et gais. Nous vous prions d'accepter notre reconnaissance d'élève et notre déférente gratitude.

Monsieur le Professeur Agrégé J. RUFFIE

Maître de Conférences Agrégé à la Faculté
Médaille militaire

Pendant plusieurs années vous nous avez guidé dans nos études de Parasitologie. Vous nous avez proposé notre sujet de thèse et accepté dans votre laboratoire pour en assurer la réalisation sous vos directives et conseils journaliers.

Nous vous exprimons notre admiration, vous assurons de notre entier dévouement et de notre très sincère amitié.

Monsieur le Professeur Agrégé J. BREUILLAUD

Maître de Conférences Agrégé à la Faculté

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre reconnaissance pour avoir accepté de juger notre travail et pour la sollicitude qu'il nous a toujours témoignée au cours de nos études.

A TOUS NOS COLLABORATEURS DU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

Monsieur le Docteur M. SICART

Pour l'immense profit que nous avons tiré de son érudition scientifique, en particulier de ses dons et talents d'Entomologiste averti.

Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse admiration et l'assurance de notre vive reconnaissance.

Monsieur le Docteur J. DUCOS

En témoignage de notre reconnaissance pour les conseils qu'il nous a donnés.

Monsieur le Docteur R. SARDOU

Chef de Travaux pratiques à la Faculté

Pour ses exposés clairs, concis et vivants des techniques de laboratoire, notre hommage respectueux.

Monsieur J. MOULIN

Pour nous avoir initié à la pratique du Laboratoire, pour sa patiente et très précieuse collaboration à notre travail tout en nous témoignant la plus grande bienveillance. Nous lui adressons nos très sincères remerciements et l'hommage de notre profond respect.

Monsieur G. CARRE

Pour l'obligeance qu'il a toujours eue à nous aider, notre vive reconnaissance.

A TOUS NOS MAITRES
DE LA FACULTE MIXTE
DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

C'est à eux que nous devons notre formation car ils ont su nous donner le goût de la recherche. Hommage respectueux.

Monsieur A. ABADIE

Pharmacien

Vous avez été notre maître de Stage qui a bien voulu nous accepter dans son officine et a guidé nos premiers pas. Notre vive gratitude.

A NOTRE MAITRE
Monsieur le Professeur F. CAUJOLLE

Professeur de Pharmacie
Correspondant de l'Académie de Médecine
Chef du Laboratoire de Pharmacodynamie
de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie

Vous nous avez accepté dans votre Laboratoire, nous permettant ainsi de tirer un immense profit de votre érudition scientifique durant nos études de Pharmacie. Veuillez être assuré de toute notre reconnaissance.

A vos éminents collaborateurs, Mademoiselle et Monsieur les Professeurs MEYNIER et STANISLAS, nous exprimons également notre vive gratitude.

A tous nos camarades du Laboratoire, notre très sincère sympathie.

A NOS COLLABORATEURS
DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE

Leur précieux concours a permis l'élaboration de ce travail. Notre très vive amitié.

AVANT-PROPOS

Le travail que nous présentons a été effectué au laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse, sous la direction de de M. le Professeur Louis BOUISSET, de M. le Professeur Agrégé Jacques RUFFIÉ et de M. le Docteur Marcel SICART, auxquels nous sommes heureux d'exprimer notre profonde gratitude.

Il est consacré à l'étude des « VARIATIONS MORPHOLOGIQUES » en culture « in vitro » de *Trypanosoma gambiense*, agent, avec *Trypanosoma rhodesiense*, des trypanosomoses humaines africaines communément appelées « Maladie du Sommeil ».

Ce parasite est un protiste de l'Embrachement des Flagellés, de la classe des Zooflagellés, de la famille des Trypanosomidés, du genre *Trypanosoma*, de l'espèce « *gambiense* ».

Il fait partie du sous-groupe *brucei* comportant un grand nombre de Trypanosomes pathogènes africains caractérisés par leur « polymorphisme » quasi-constant. Leur malléabilité morphologique et biologique considérable est utile à connaître pour démasquer le parasite sous ses divers aspects chez l'homme, l'animal d'expérience, l'hôte vecteur et le réservoir de virus.

La mise au point d'un milieu de culture s'imposait à nous, car les milieux classiques ne permettent pas une survie suffisante pour l'étude de ces « variations morphologiques ».

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE ET REVUE DES VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DEJA CONNUES DE TRYPANOSOMA GAMBIENSE

HISTORIQUE

La Trypanosomose à *Trypanosoma gambiense*, connue sous le nom de Maladie du Sommeil ou « Negro-lethargy », a été décrite depuis le XIV[e] siècle par un auteur arabe comme existant déjà dans le royaume du Mali.

En 1754, un marin, le chirurgien anglais ATKINS, la note chez les indigènes de la Côte de Guinée.

C'est un médecin anglais, WINTERBOTTOM qui, en 1794, en fait la description clinique. Des populations entières étaient décimées et les pertes en bétail étaient considérables. « Royaumes disparus, zones maudites ».

Puis en 1840, VALENTIN observe le premier Trypanosome dans le sang de la truite. A la même époque, GRUBY crée le nom de « *Trypanosoma* » pour le flagellé découvert chez la grenouille.

C'est à EVANS que revient, en 1880, la description du premier trypanosome pathogène des chevaux et chameaux de l'Inde (SURRA). A la même date, CORRÉ, au

Répartition géographique
des trypanosomes africains

Trypanosoma gambiense (Glossina palpalis).

Trypanosoma rhodesiense (Glossina morsitans).

Trypanosoma gambiense (Glossina tachinoïdes).

Trypanosoma equiperdum.

Sénégal, poursuit la description clinique de la maladie sous le nom Ouoloff de « Névalane ».

Pendant toute cette époque, on ne soupçonnait pas encore la participation des insectes à la transmission de la maladie qui, vers le début du XX^{e} siècle, se répand dans tout le continent noir et atteint la côte Est sous l'influence du développement des moyens de communications et des relations commerciales. Jusque-là, elle avait été localisée à la côte occidentale de l'Afrique entre le Sénégal et le Congo (voir carte p. 12).

Le rôle de la mouche « Tsé-Tsé » dans la propagation de la maladie, déjà soupçonné par LIVINGSTONE, fut affirmé par BRUCE en 1897, qui avait découvert le Trypanosome du Nagana des bovidés et équidés (*Trypanosoma brucei*).

Cinq ans plus tard, en 1902, DUTTON, de l'Ecole de Médecine tropicale de Liverpool, découvre la présence de trypanosomes dans le sang d'un malade qui eut une rechute à l'hôpital de Bathurst (Gambie anglaise). A la même période, le parasite fut retrouvé dans le sang d'un jeune indigène de Gambie, en parfait état clinique et prit le nom de « *Trypanosoma gambiense* ». Des recherches systématiques effectuées alors par un biologiste envoyé de l'Ecole de Médecine tropicale de Liverpool montrent l'existence du parasite dans le sang de sept sujets pour mille (7/1000) pris au hasard dans la population.

En Uganda, au cours d'une épidémie en 1903, CASTELLANI retrouve le parasite dans le liquide céphalo-rachidien des malades mais l'appelle « *Trypanosoma ugadense* » qui sera identifié à *Trypanosoma gambiense*.

C'est enfin BRUCE qui, éclairé par l'étude du « Nagana » du bétail, affirme que ce trypanosome était l'agent pathogène de l'épidémie et établit le rôle de « *Glossina palpalis* » dans la transmission de la maladie.

En 1910, Stephens et Fantham créent l'espèce « *Trypanosoma rhodesiense* », transmise par « *Glossina morsitans* », localisée à la côte Est de l'Afrique, donnant une trypanosomose caractérisée par la rapidité de son évolution et sa haute mortalité.

A partir de 1908, Rouhaud et Kleine établissent le cycle biologique du parasite chez la tsé-tsé.

L'énorme danger de cette affection ainsi précisée donna lieu à une première conférence internationale en 1907 qui permit aux pays intéressés de confronter les connaissances acquises.

Puis en 1925 et 1928, la Société des Nations réunit deux commissions internationales pour l'étude de la trypanosomose humaine. Plus récemment, en 1948, se tint à Brazzaville une conférence africaine sur la tsé-tsé et la trypanosomose qui créa « le Comité scientifique international de recherches sur les trypanosomoses » et le « Bureau permanent interafricain de la tsé-tsé et de la trypanosomose ».

Certains auteurs ont établi une différence entre l'aspect chronique à dominante nerveuse de la trypanosomose à *Tr. gambiense* transmise par *Glossina palpalis* et *Glossina tachinoïdes* et l'aspect aigu à tendance fébrile de la trypanosomose à *Tr. rhodesiense* transmise par *Glossina morsitans*. D'après Hoare (25) il n'y aurait pas de démarcation aussi nette car on a pu décrire dans les deux cas des formes aiguës et des formes chroniques, ce que confirme actuellement l'électroencéphalogramme qui montre que la localisation nerveuse est très précoce.

La recherche d'une thérapeutique efficace a abouti actuellement à la nécessité absolue de la ponction lombaire qui seule permet :

— le diagnostic précis de l'atteinte méningée,

— le choix du médicament à prescrire,

— le contrôle de son efficacité.

Ainsi la ponction lombaire est-elle le premier acte du traitement d'un trypanosomé et selon ses résultats on fera appel soit :

— à un trypanocide du système lymphatico-sanguin,

— à un trypanocide du liquide céphalo-rachidien.

Nous distinguerons donc :

A. Trypanocides du système lymphatico-sanguin.

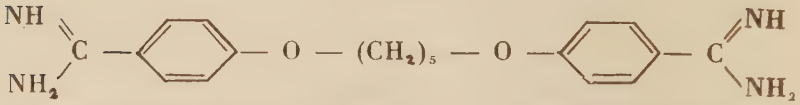
Ceux-ci sont utilisés lorsque la recherche du trypanosome dans le liquide céphalo-rachidien est négative.

1°) *Les diamidines :* furent envisagées et emplyées comme trypanocides à la suite des travaux de Jancso en Hongrie, de Schern et Artageveyta en Amérique du Sud, de l'action de la synthaline dans la trypanosomose expériementale du rat et de la souris.

C'est à la suite des travaux précédents que King, Lourie et Yorke en 1937-1938 et ultérieurement Ewines mettent en évidence l'activité des diamidines aromatiques (dérivés de la guanidine) comme trypanocides de choix. Mais actuellement il est établi que ce sont d'excellents trypanocides du sang qui n'ont aucune action sur les lésions méningées.

Parmi ces diamidines, c'est surtout la *lomidine* (diamidine méthane sulfonate ou 2512 R.P.), qui est retenue pour le traitement de la trypanosome à *Trypa-*

soma gambiense ou Maladie du Sommeil. C'est le méthane sulfonate de la pentamidine dont on emploie aussi



Pentamidine (4 4' diamidino - 1 - 1' diphénoxypentane)

le chlorhydrate ou 800 May and Baker et le di-isethionate.

La lomidine a une plus grande rapidité d'action que ces deux autres sels de la pentamidine.

Ce produit est employé par *voie intramusculaire* (qui s'est révélée la meilleure) en solution de 2 à 10 %, séries de 8 à 10 injections de 2 à 3 mg par kg ou de 5 injections à 4 mg par kg (injections quotidiennes ou à jour passé). Dès la 8^{me} heure, on constate la disparition des trypanosomes du sang du malade, mais il faut attendre la 48^{me} heure pour la lymphe. Ces résultats se maintiennent dans 96 à 97 % des cas avec 3 à 4 % de rechutes sanguines. Malheureusement, il faut mentionner qu'on constate environ 8 à 10 % d'évolutions nerveuses ultérieures.

On a pensé que le produit agissait sur le glucose du trypanosome dont il modifierait le métabolisme. En fait, il semble agir surtout sur le métabolisme des acides nucléiques du parasite.

L'action prophylactique des diamidines fut ensuite mise en évidence en 1940 par Launoy et Lagodsky. On pense que cette action préventive serait due à la longue rétention du produit dans l'organisme et à sa lente métabolisation. Le premier terrain d'expérience fut la Nigéria en 1942. On emploie généralement la dose de 4 mg par kg, par voie musculaire, appliquée à tous les habitants après dépistage préalable, puis traitement de

tous les individus porteurs de trypanosomes. Ce qui serait possible par la méthode dite « Pass-control » des Anglais, qui consiste en l'installation d'un centre médical à un grand carrefour avec examen systématique de tous les passants.

La protection ainsi conférée est estimée à six mois environ. Mais, comme l'ont remarqué JONCHÈRE en 1951 et FAIRBAIM en 1954, en plus de cette protection, les diamidines, par la réduction des réservoirs de virus qu'elle entraîne dans la collectivité traitée, diminuent la possibilité d'infestation des glossines et l'incidence de la trypanosomose chez les sujets non chimio-protégés eux-mêmes.

En faisant remarquer que les diamidines peuvent avoir une légère action sur les lésions nerveuses au début, que les rares accidents qu'elles provoquent sont l'hypotension, le refroidissement des extrémités, la tachycardie et qu'on n'a pas encore à leur propos constaté de chimio-résistance, on comprend qu'elles soient actuellement les médicaments de choix contre la phase lymphatico-sanguine de la maladie.

2°) *Les autres trypanocides de la phase lymphatico-sanguine :*

a) LES ARSÉNICAUX :

α — *Atoxyl* (sel sodique de l'acide paramino-phénylarsinique) découvert par W. THOMAS, AYRES KOPKE (1905-1906). Très actif, se révéla toxique.

β — *Arsobal* ou Mel B - Actif, pourrait, par une injection de 4 mg/kg amener la guérison de la phase lymphatico-sanguine. Mais accidents oculaires.

γ — *La Tryparsannide* (sel sodique de l'acide para-amygdoglycyl-phénylarsique). Possède une action trypanocide dans le stade lymphatico-sanguin nettement inférieure à celle de l'Atoxyl, par exemple, actuellement

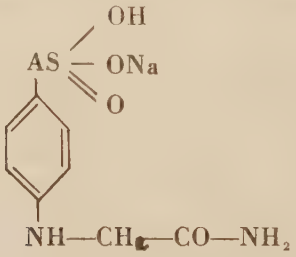
employée plutôt dans la phase nerveuse de la maladie.

b) Les uréides :

En particulier le *Bayer* 205 ou *Moranyl*, employé à 5 ou 6 injections I.V. ou I.M. d'une solution à 10 % préparée extemporanément : 1er jour : 0,50 gr ; 2e-3e jours : 1 gr.; 9e jour : 1 gr., avec 1 à 2 injections pour une cure de 200 mg par kg de poids corporel.

B. **Trypanocides du liquide céphalo-rachidien.**

Sont employés lorsque la recherche du trypanosome dans le liquide céphalo-rachidien est positive.



Tryparsamide
(Phényl-glycocolamide p. arsinate de sodium).

Dans ce cas, on fait appel surtout à la *Tryparsamide* qui s'est cependant révélée peu active au stade lymphatico-sanguin. Elle fut découverte par Jacob en 1925.

On l'emploie alors à des doses supérieures à 0,03 gr/kg (stade lymphatico-sanguin) et qui sont ici de :

0,009 gr/kg (enfants)
0,0175 gr/kg (adolescents)
0,06 gr/kg (adultes).

Pendant ce traitement, surveiller le malade. Des accidents oculaires peuvent intervenir (en particulier avec l'Arsobal). Dans ce cas, arrêter le traitement ou le suspendre un certain temps.

C. **Autres médicaments.**

Des auteurs ont envisagé différents médicaments tels que :

1°) *Antibiotiques :* Purimycine et Nucléocidine (1957).

2°) *Nitrofurazone* ou furacine, qui aurait donné de bons résultats au stade lymphatico-sanguin.

3°) *Capsibone* (1957) qui aurait donné des résultats prometteurs dans la maladie expérimentale.

Habitat et caractéristiques morphologiques de Trypanosoma gambiense :

Trypanosoma gambiense se rencontre dans le sang, le suc ganglionnaire, la moelle et surtout dans le liquide céphalo-rachidien, lieu de prédilection du parasite dans la phase évolutive terminale de la maladie. Il affecte toujours la forme « trypanosoma », toutefois sa forme leishmanienne arrondie peut être rencontrée dans les organes où elle est intra-cellulaire. Le parasite se rencontre chez l'homme, peut-être chez des vertébrés qui seraient des réservoirs de virus et dans l'organisme de deux invertébrés hôtes vecteurs : « *Glossina palpalis* » et « *Glossina tachinoïdes* ».

Dans le sang de vertébré, on rencontre des trypanosomes de formes longues et minces, de formes intermédiaires et de formes trapues; les dimensions se situent entre 12 et 42 microns, sur 15 à 3,5 microns. Les formes trapues varient de 12 à 26 microns, les formes longues de 29 à 42 microns, qui sont, en général, avec les formes intermédiaires, celles qui prémominent dans le sang humain (fig. I).

L'étude des caractéristiques morphologiques d'un trypanosome typique montre (fig. II) un parasite unicellulaire à corps ovoïde plus ou moins effilé constitué par :

— un cytoplasme vacuolaire à corpuscules chromatiques (V) qui peuvent renfermer de l'acide pentose-nucléique (grains de volutine) ;

— un noyau (N) situé dans la région centrale et son caryosome (Ka) ;

— un blépharoplaste (B) et un corps parabasal (P) formant le cinéto-nucléus (Kn) ;

— un axonème (A) continué par un flagelle (Fl), formation née du cinétonucléus dans la partie postérieure du parasite, qui s'extériorise en entraînant un repli protoplasmique formant membrane ondulante et se dirige vers la partie antérieure qu'elle prolonge très largement.

Il est à remarquer que l'extrémité postérieure de *Trypanosoma gambiense* est arrondie à la différence de *Trypanosoma cruzi* agent de la trypanosomose américaine. Les trypanosomes sont mobiles et se déplacent flagelle en avant.

Variations morphologiques de Trypanosoma gambiense au cours de son cycle biologique et de sa reproduction :

Trypanosoma gambiense fait partie des trois trypanosomes africains dits du « *Groupe Brucei* », à savoir : *Trypanosoma brucei* agent pathogène du Nagana du bétail, *Trypanosoma rhodesiense* et *Trypanosoma gambiense* agents pathogènes de la trypanosomose humaine africaine ou Maladie du Sommeil. Ces trois trypanosomes sont dits « espèces polymorphes », par opposition à d'autres trypanosomes qui sont des espèces « monomorphes », tel, par exemple, *Trypanosoma uniforme* du groupe *vivax*, agent pathogène d'une trypanosomose mortelle des ruminants.

Aussi est-il classique d'admettre que les trypanosomes, au cours de leur évolution, passent par les divers

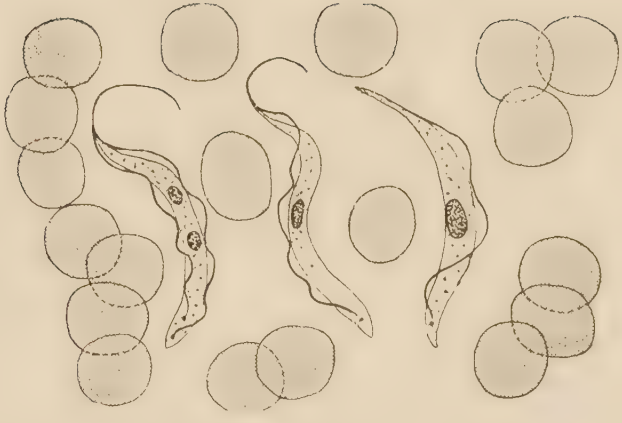


Fig. I. — *Trypanosoma gambiense* dans le sang
(d'après G. NEUGEAN) (in *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*)

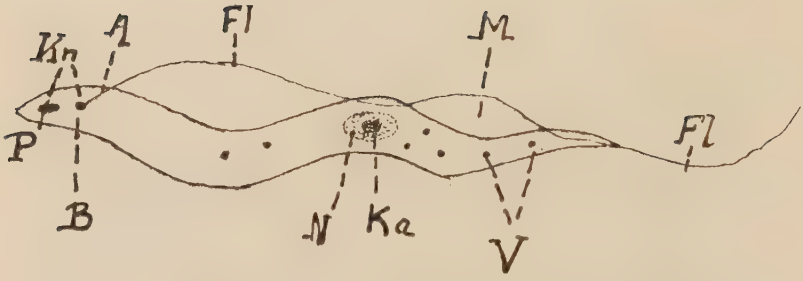


Fig. II. — Caractères morphologiques de *Trypanosoma gambiense* (d'après Ernest C. Faust)

P : corps parabasal.
Kn : cinéto-nucléus.
B : blépharoplaste.
A : axonème.
Fl : flagelle.
N : Noyau.
Ka : caryosome.
M : membrane ondulante.
V : grains de volutine.

stades morphologiques (fig. III) : LEPTOMONAS, CRITHIDIA, LEISHMANIA et TRYPANOSOMA, qu'il faut bien connaître pour savoir diagnostiquer le parasite sous ses divers aspects chez l'homme, l'animal d'expérience, l'hôte vecteur et le réservoir de virus.

Le type LEPTOMONAS est caractérisé par un cinéto-nucléus en avant du noyau et duquel part un flagelle directement vers la partie antérieure du parasite sans formation de membrane ondulante.

Le type CRITHIDIA ne diffère du précédent que par une ébauche de membrane ondulante au voisinage de la pointe antérieure du parasite et plus accessoirement par la taille.

Quant au type LEISHMANIA, il se caractérise par l'absence totale de flagelle externe ; ce dernier demeure à l'intérieur du parasite (axonème) partant du cinétoplaste antéro-nucléaire vers l'avant du parasite, mais il se caractérise aussi par son habitat strictement intracellulaire.

D'après V. Reynes, « S'il est probable que *Trypanosoma rhodesiense* a comme réservoir de virus les grands mammifères, il est difficile d'admettre que *Trypanosoma gambiense* ait d'autres réservoirs de virus que l'homme et la mouche ». Lorsque ce dernier est infecté, on trouve, d'après Moore et Breuil, dans la moelle osseuse, la rate, le foie, des corps arrondis de 2 à 4 microns de diamètre avec protoplasma, noyau, blépharoplaste sans flagelle extériorisé, c'est-à-dire des formes « LEISHMANIENNES » (fig. III) que ces auteurs appellent « latent bodies ».

Pour certains auteurs ces « corps arrondis » seraient les aspects originels d'une nouvelle génération de trypanosomes. Mais, s'il en était ainsi, les sujets qui en seraient porteurs pourraient être considérés comme réservoirs de virus pouvant d'ailleurs ne jamais présenter de

troubles, devenant ainsi de véritables « porteurs sains » ou de « virus résiduels » (Vaucel) qu'aucune prophylaxie médicamenteuse ne permet de réduire.

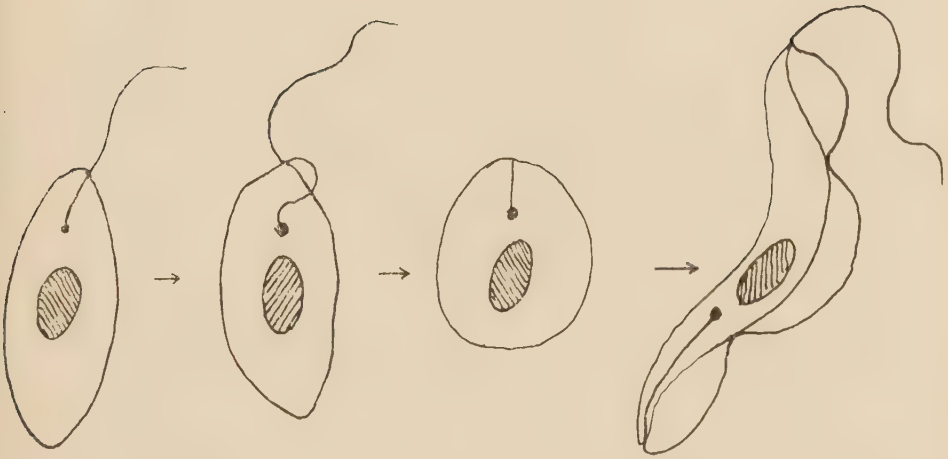
Tandis que, dans le sang de l'homme infecté, où *Trypanosoma gambiense* peut apparaître une dizaine de jours après l'inoculation, la forme typique de trypanosome serait conservée (a, b et c fig. IV), le polymorphisme se limitant uniquement à quelques rares formes postéro-nucléaires (d, fig. IV). Des auteurs anglais affirment que ces variations morphologiques seraient plus accusées dans le liquide céphalo-rachidien.

Il est intéressant aussi de noter que certains auteurs distinguent *Trypanosoma gambiense* de *Trypanosoma rhodesiense* par la virulence beaucoup plus accrue de ce dernier pour les animaux de laboratoire et par le plus grand nombre de formes « postéro-nucléaires » dans cette infection expérimentale.

Bien que des auteurs aient noté quelques cas de transmission directe d'homme à homme, en particulier par injection de sang ou transfusion sanguine et peut-être des transmissions héréditaires par voie transplacentaire, le vecteur essentiel de *Trypanosoma gambiense* est la mouche Tsé-Tsé dont les aires de répartition géographique (voir carte) délimitent les zones d'épidémie et d'endémie.

Ceci est d'autant plus vrai que certains noirs d'Afrique, infectés, transplantés aux Antilles lors de la traite des esclaves, ont importé le virus dans le continent américain mais, faute de glossine, la maladie n'a pu s'y installer.

Aussi, *Glossina palpalis* (fig. V) et *Glossina morsitans*, diptères hématophages de la famille des Muscidés, constituent-elles avec l'homme des réservoirs de virus essentiels de *Trypanosoma gambiense*. Les deux sexes de la glossine sont strictement hématophages et



Leptomonas *Crithidia* *Leishamia* *Trypanosoma*

Fig. III

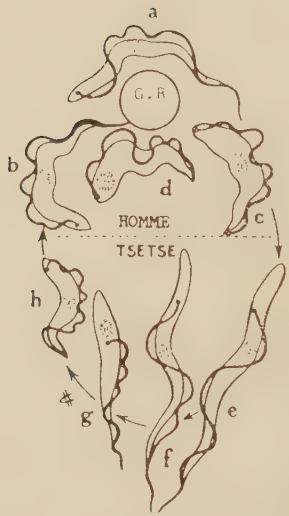


Fig. IV. — Cycle biologique des *Trypanosomes gambiense* et *rhodesiense* (d'après Hoare et G. Neugean) (in *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*)

a à d : chez l'homme.

c à d : chez la glossine.

c : forme à noyau postérieur.

f : forme proventriculaire.

g : forme crithidienne.

h : trypanosome métacyclique.

G.R. : globule rouge.

peuvent en un repas absorber une quantité de sang équivalente à leur propre poids.

Trypanosoma gambiense ingéré avec le sang subit dans l'organisme de la glossine un cycle très particulier (fig. VI) au cours duquel il présentie des VARIATIONS MORPHOLOGIQUES considérables (fig. IV). Le trypanosome absorbé par la glossine gagne de lui-même l'intestin du diptère dans la lumière duquel il reste jusqu'au 4^{me} jour, donnant naissance à des « formes allongées à noyau postérieur (e, fig. IV). Celles-ci s'insinuent entre le bord libre de la membrane péritrophique et la paroi épithéliale de l'intestin, atteignant le proventricule, s'y transformant en formes dites « proventriculaires » (f, fig. IV) très allongées et à noyau quasi médian. Puis ces formes effilées, très minces, s'insinuent entre la paroi du proventricule et la membrane « péritrophique », atteignent le tube digestif, donnent des « formes crithidiennes » (g, fig. IV), qui se multiplient intensément. Ces formes crithidiennes relativement trapues à flagelle et cinétoplaste antérieurs remontent à contre-courant l'œsophage (fig. VI), arrivent à l'orifice de l'hypopharynx, s'y engagent pour rejoindre la partie terminale des glandes salivaires où elles se fixent par l'extrémité libre du flagelle. C'est à ce niveau qu'elles se transforment en « trypanosomes métacycliques » (h. fig. IV).

Ce sont ces trypanosomes métacycliques qui sont infectieux pour l'homme et qui seront inoculés par la salive de la Tsé-Tsé lors de son repas sanguin.

La durée totale de cette migration de *Trypanosoma gambiense* dans l'organisme de la glossine est de 18 à 20 jours et la glossine devient infestante 2 à 5 jours après l'envahissement de ses glandes salivaires par les formes crithidiennes.

Fig. V. — *Glossina palpalis* et pupes (d'après G. Neugean)
(in *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*)

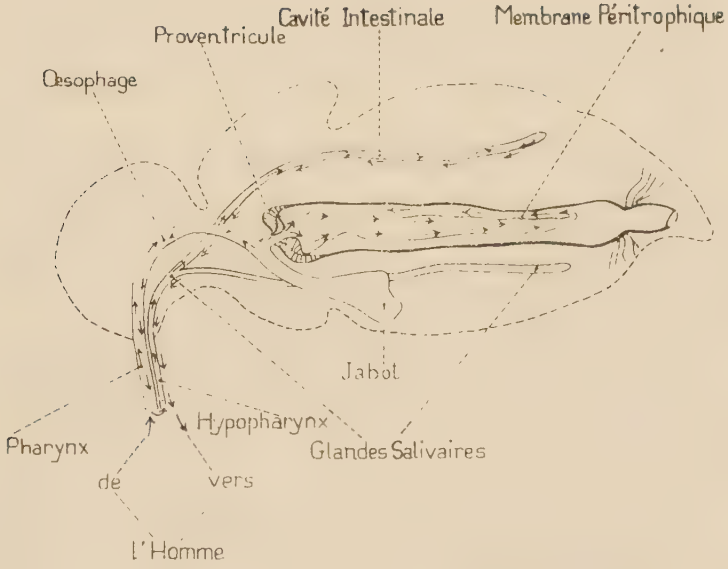


Fig. VI. — Migration des *Trypanosomes gambiense* et *rhodesiense* dans l'organisme de la glossine (d'après G. Neugean).

(in *Encyclopérie Médico-Chirurgicale*).

L'évolution ainsi décrite n'est pas chaque fois réalisée et deux autres éventualités peuvent se présenter :

— les trypanosomes ingérés sont totalement digérés par la glossine ;

— les trypanosomes absorbés par la mouche ne survivent et ne se multiplient que dans son proventricule ; ils disparaissent totalement si un nouveau repas sanguin remplit complètement le proventricule ; on dit alors que l'infestation de la glossine n'est pas permanente.

De même, il faut noter que tous les trypanosomes atteignant les glandes salivaires ne se transforment pas nécessairement en formes métacycliques (V. Reynes), signe du pouvoir infectant de la glossine, et que la mouche ainsi infestée peut rester inoffensive toute sa vie.

Toutes ces données expliquent qu'il n'y ait que 10 % de glossines ayant une infestation permanente avec seulement 1 à 3 % possédant des trypanosomes métacycliques, seuls infestants pour l'homme et les vertébrés.

Trypanosoma gambiense se multipliant aussi bien chez la glossine que chez l'homme, on peut admettre que sa REPRODUCTION peut se faire sous tous les « STADES MORPHOLOGIQUES » que nous venons de passer en revue. Bien que certains auteurs pensent que les « formes très effilées » d'une part, les « formes trapues » de l'autre signent une différence de sexes (Elkeles), la reproduction sexuée n'a pas encore été mise en évidence. Les auteurs sont quasi-unanimes sur la division longitudinale et binaire d'abord du blépharoplaste et du corps parabasal, puis du noyau, ensuite de la membrane ondulante et enfin du cytoplasme. L'axonème et le flagelle ne se diviseraient pas, mais du nouveau blépharoplaste naîtrait un nouvel axonème qui donnerait son flagelle s'acheminant vers la partie anté-

rieure du parasite fils, devenant ainsi « presque morphologiquement identique au trypanosome père ».

Principaux milieux classiques de culture de Trypanosoma gambiense, leur insuffisance dans l'étude de ses variations morphologiques :

La première culture des protozoaires sur milieux à base de gélose au sang fut faite par Novy et Mac Neal en 1903 sous le nom de « *Milieu Gélose NN* » de formule :

Bouillon de veau (125 gr de viande)	1.000 cc
Peptone	20 gr
Gélose nutritive	20 à 25 gr
Cl Na	5 gr
Solution NaOH N/10	10 cc

Après autoclavage et mise en flacon, adjonction de 20 à 25 % de sang frais.

C'est d'ailleurs en fait l'introduction en protistologie du milieu créé en bactériologie par Pfeiffer en 1893 pour *Hemophilus influenza* et mis au point par Besouzon et Griffon qui y cultivèrent *Trypanosoma lewisi* et *Trypanosoma brucei*.

La complexité de ce milieu et ses résultats peu satisfaisants amenèrent Ch. Nicolle en 1908, à le simplifier créant ainsi le « *Milieu N.N.N.* » de formule :

Gélose simple	14 gr
ClNa	6 gr
Eau distillée	900 cc

Addition de 20 à 25 % de sang de lapin.

Puis Hagemeister, en 1914, se basant sur les observations de Biot et Richard (1911) à propos de l'influence favorable du glucose sur les trypanosomes et s'inspirant des travaux de Nicole, crée le *Milieu N.N.N. glucosé* de formule :

Milieu N.N.N.	100 gr
Glucose	2 gr

D'après PONSELLE (1924) il existerait un milieu du type N.N.N. sans chlorure de sodium (hypotonie absolue) qui donnerait des résultats satisfaisants. Mais l'expérience a montré que les parasites y ont une croissance chétive.

Mais le premier milieu créé pour la culture spécifique des trypanosomes pathogènes africains, en particulier *Trypanosoma gambiense*, fut : « *Le Milieu Razgha, en* 1929 » de formule :

ClNa	0,06 gr
Cl_2Ca	0,02 gr
ClK	0,02 gr
CO_3H Na	0,02 gr
H_2O distillée	1.000 cc

Ce n'est autre que le RINGER pour invertébrés auquel il ajoute du sang citraté. Par ailleurs, REICHENOW, en 1934, montre que « *Trypanosoma cruzi* » (agent de la trypanosomose humaine américaine) s'accommode du milieu en remplaçant le RINGER par le LOCKE. « Ce milieu, affirme POIRIER, donne des résultats fort inconstants ».

Il faut attendre 1938 pour que BRUTSAERT, qui avait remarqué que certains sérums humains étaient lytiques pour le trypanosome, mette au point, pour l'hémoculture chez les malades, le milieu qui porte son nom : « *Milieu Brutsaert* », de formule :

Solution de citrate de soude à 10 %	0,2 cc
Sang humain (non inactivé)	1,8 cc
Solution de Ringer (ou Tyrode) ..	2 cc

Puis en 1944, WEINMAN, utilisant l'héparine comme anticoagulant, crée un milieu à deux réactifs A et B qui porte son nom : « *Milieu Weinman* » :

A :	Gélose nutritive Difco à 1,5 %	31 gr
	Eau distillée	1.000 cc
B :	Plasma humain inactivé	12,5 cc
	Glob. rouges humains lavés	12,5 cc

Il ajoutait 75 cc de A à 25 cc de B pour réaliser le milieu.

Ce fut le tour de Tobie von Brandt en 1950 de mettre au point, suivant une méthode délicate, justiciable de la difficulté de culture de *Trypanosoma gambiense*, le milieu qui porte son nom : « *Milieu Tobie Von Brandt* ».

Granulé Liebig M C.	13 gr
ClNa	3 gr
Gélose	15 gr
Eau distillée	1.000 cc

On distribue 3 cc par tube. On stérilise à l'autoclave. Quand la gélose est fondue et amenée à 45° C, ajouter le sang humain citraté et inactivé 30 minutes à 56° C, à raison de 1 cc par tube. Incliner. Le lendemain, 2 cc de solution de Locke. Contrôler la stérilité à l'étuve.

Malgré la minutie et les soins apportés à l'utilisation de ces trois derniers milieux de culture, les auteurs sont unanimes sur les faits suivants :

1°) La culture de *Trypanosoma gambiense* est généralement difficile à réaliser ;

2°) Les meilleures chances de succès sont obtenues à partir de l'homme malade ou des animaux d'expérience très récemment infectés par le sang humain ou la lymphe. En dépit de cette précaution, après quelques passages à la seringue, les souches de *Trypanosoma gambiense* ne sont plus cultivables. C'est pour ces raisons que les « VARIATIONS MORPHOLOGIQUES de *Trypanosoma gambiense* EN CULTURE » n'avaient pas pu jusque-là être valablement étudiées. Les rares auteurs

qui font allusion à cette étude (Reynes) parlent de la possibilité de « formes proventriculaires » qui n'évolueraient jamais jusqu'au « *gambiense* métacyclique ».

Notre expérimentation ne prétend qu'à une ébauche de cette étude en ce sens qu'elle a été réalisée avec UNE SOUCHE DE *Trypanosoma gambiense*, que nous avons pu maintenir en survie pendant CINQ MOIS ET DEMI, par des repiquages successifs dans un « MILIEU » que nous avons mis au point. Les difficultés d'obtention de plusieurs souches de ce parasite à notre centre de recherches nous amène, à la publicahtion de nos résultats, avant d'entreprendre d'autres cultures.

CHAPITRE II

EXPOSE DE NOTRE EXPERIMENTATION

ORIGINE DE LA SOUCHE

La souche utilisée a été fournie par l'Institut de Médecine tropicale de Lisbonne, par les Services du Professeur CRUZ-FERRERA, que nous tenons à remercier ici.

C'est ainsi que le 12 juillet 1960 nous disposions de deux tubes de culture (milieu au sang humain frais) de *Trypanosoma gambiense*.

Aussitôt un contrôle microscopique de la culture entre lame et lamelle mettait en évidence de nombreux *Trypanosoma gambiense* vivants et mobiles, environ 5 à 10 par champ microscopique.

Au point de vue morphologique, ils avaient tous les caractères des *Trypanosoma gambiense* typiques du sang humain (fig. I, chapitre premier) que nous avons déjà décrits.

Nous avons alors procédé aux opérations suivantes :

— le contrôle d'inhibition des trypanosomes,

— les essais de culture in vivo des trypanosomes de la souche,

— la culture in vitro de nos trypanosomes.
  - milieu ;
  - amélioration de notre milieu ;
  - recherche de la température optimum pour la culture de cette souche ;
  - culture avec les différents groupes sanguins (tableaux et histogrammes).

— Résultats des variations morphologiques (dessins).

— Conclusions.

I. Contrôle d'inhibition des trypanosomes de cette souche.

Nous avons d'abord mis en présence la culture avec des sérums de lapins immunisés avec du trypanosa. (Ce produit est constitué par des corps cellulaires de *Trypanosoma cruzi* (*Schizotryparum cruzi*) lysés et stabilisés par lyophilisation). Institut Mérieux, Lyon.

Pour ce faire, nous avons fait une répartition de cette culture d'origine en tubes à hémolyse (0.5 cc) par tube, de la manière suivante :

Lot 1 : 2 tubes où rien n'a été ajouté

Lot 2 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum *normal* de lapin *non* immunisé (témoin).

Lot 3 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum *inactivé* de lapin *non* immunisé (témoin).

Lot 4 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum *normal* de lapin *immunisé* par *T. cruzi* et ayant un haut titre d'agglutinines.

Lot 5 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum *inactivé* du même animal.

Lot 6 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum inactivé de lapin *non* immunisé + sérum A.B.

Lot 7 : 2 tubes + 0,10 cc de sérum inactivé de lapin

immunisé par *T. cruzi* et ayant un haut degré d'agglutinines + sérum AB.

Le tout est mis à l'étuve à + 25 à 27° C.

Un tube sur deux de chaque lot est examiné entre lame et lamelle après une heure d'étuve pour voir s'il y a *immobilisation* des trypanosomes.

Voici nos résultats :

Lot 1 : sans addition. Trypanosomes très mobiles (nombreux).

Lot 2 : lapin normal, sérum normal. Trypanosomes rares, peu mobiles.

Lot 3 : lapin normal, sérum inactivé. Trypanosomes nombreux, très mobiles (non immunisé).

Lot 4 : lapin immunisé, sérum normal. Tryanposomes *immobiles*, il est très difficile de les voir.

Lot 5 : lapin immunisé, sérum inactivé. Trypanosomes *très mobiles :* tous.

Donc seuls les sérums de lapins immunisés et non inactivés demeurent actifs sur les trypanosomes.

II. Essais de culture in vivo de cette souche de Trypanosoma gambiense.

Le 12 juillet 1960. Avec un tube de culture d'origine, nous procédons à des inoculations sous-cutanées :

0,2 pour les souris (culture pure).
0,5 pour les rats et cobayes (culture pure).

	DATES DES EXAMENS				
	15-7	18-7	20-7	23-7	30-7
1re souris (bleue)	0	0	0	0	0
2me souris (jaune)	0	0	0	0	0
3me souris (rouge)	0	0	0	0	0
4me souris (verte)	0	0	0	0	0
5me rat (jaune)	0	0	0	0	0
6me rat (rouge)	0	0	0	0	0
7me cobaye (violet)	0	0	0	0	0
8me cobaye (violet)	0	0	0	0	0

Ces résultats confirment le peu de virulence de *Trypanosoma gambiense* pour les animaux de laboratoire en général, ce qu'avaient déjà remarqué plusieurs auteurs qui en font même un caractère distintif de *Tr. rhodesiense.*

Nous pensons qu'il est intéressant de signaler qu'à la même époque nous réussissions des cultures in vivo de *Trypanosoma equiperdum*, agent de la Dourine du cheval.

III. Culture in vitro de Trypanosoma gambiense.

1 — Milieu.

Préparation : nous avons suivi la technique suivante :

Produits :

ClNa	8,5 gr
Gélose (agar-agar)	2 gr
H_2O	900 cc

Premier temps :

Faire fondre la gélose au bain-marie bouillant pendant 20 à 30'.

Répartir en tubes à essais de 18 × 18 (4 cc par tube).

Stériliser 20' à 120° C. Conserver à + 4° C.

Deuxième temps :

Recueillir le jour dé l'ensemencement dans un flacon contenant des billes (stériles). *sans anti-coagulant*, 40 à 50 cc de sang humain.

Défibriner ce sang par les billes en agitant pendant 10'.

Troisième temps :

Au moment d'ensemencer, ajouter stérilement (pipette graduée stérile) 2 cc de sang défibriné par tube ayant 4 cc du milieu ci-dessus.

Mélanger intimement, éviter les bulles d'air.

N.-B. — Avant d'ajouter le sang, chauffer au bain-marie à 40° C les tubes nécessaires (5 à 6) pour un repiquage. Ajouter le sang à cette température pour faciliter le mélange. Mélanger, disposer les tubes sur un porte-tubes.

Procéder à l'ensemencement lorsque la température est voisine de 27 à 30° C. Mélanger.

Mettre à l'étuve à 25-27° C après marquage des tubes le plus rapidement possible.

Repiquages tous les 5 jours ; si la culture n'est pas assez riche, attendre un jour de plus.

Repiquer 4 à 5 tubes (accidents, souillures) au moment du repiquage, vérifier les cultures de 5 jours, prendre la plus riche, sans souillure, comme nouvelle souche.

Notre contrôle de culture se fait entre lame et lamelle au microscope sur fond noir.

2. — Essais de culture a toulouse *de cette souche de* Trypanosoma gambiense *avec le milieu décrit dans le paragraphe I ci-dessus.*

— 1er *repiquage :*

	Tubes	16-7	18-7	20-7	26-7	30-7	1-8	6-8
12 juillet 1960 souche de Lisbonne	1	0	0					0
	2	0	0	0			0	—
	3	0	0	+ +	+ +	+ +	—	—
	4	0	0	0				0

Chaque tube est ensemencé avec 1 cc environ de culture donnant trois à quatre éléments par champ microscopique.

— *le* 2me *repiquage* fait le 20 juillet 1960.

En utilisant le tube 3 du repiquage du 12-7 comme souche, on a des résultats de culture sensiblement *identiques.*

— *le* 3me *repiquage* fait le 26 juillet 1960.

Enrichissement spontané de la culture : le tube 4 du 2me repiquage (meilleure culture) utilisé comme souche, donne une richesse de culture plus marquée avec son maximum (+ + +) le 10me jour de culture.

Entre-temps, un essai de culture est fait avec le milieu préparé depuis 10 jours et conservé à + 4° C.

— 4me *repiquage* fait le 30 juillet 1960 : souche : reste du tube 3 du repiquage du 12 juillet. Dès le 6 août (7 jours), nous avions une culture assez abondante. Culture morte le 17 août seulement.

— 5me *repiquage :* si le milieu préparé depuis quel-

ques jours semble donner une culture rapide et riche, la longévité ne semble pas être augmentée.

— Le 23 août 1960, nous en sommes au 6^{me} *repiquage:* bien qu'assez faiblement la souche pousse sans heurt et semble acclimatée, ce que confirment encore les 7^{me}, 8^{me} et 9^{me} repiquages.

3. — Culture *avec modification du milieu au troisième temps.*

Le milieu ne change pas, aux premier et deuxième temps de préparation ; par contre, nous apportons au troisième temps la modification suivante :

Troisième temps : au moment d'ensemencer on ajoute stérilement (pipette graduée stérile) dans certains tubes, 2 cc, soit de

sérum humain normal du groupe O Rhesus +,
ou sérum humain inactivé 10' à 56° C,
ou sérum humain inactivé + 0,5 cc de purée globulaire gardée stérilement après avoir décanté le sérum par centrifugation.

Ces différents milieux seront préparés en quantité suffisante afin de pouvoir les utiliser le jour de la préparation et, par la suite, pour les repiquages de 7 jours, 14 jours et 21 jours.

Entre temps, tous ces tubes seront conservés à la glacière à + 4° C.

A partir de ce moment, les repiquages se feront de semaine en semaine.

« *A chaque repiquage nous avons donc :* donneur du groupe O — Rhesus + ».

— 9^{me} repiquage :

milieu ancien : tube initial avec sang total (1) (1bis).
milieu nouveau : tube initial avec sérum normal.
» : tube initial avec sérum inactivé (2) (2bis).

» : tube initial avec sérum inactivé + purée globulaire.

— *Dès le 3 septembre 1960 : 10*[me] *repiquage.*

La culture n'était plus assurée avec le *milieu ancien au sang total*, même en prenant comme souche une culture riche *cultivant sur sérum inactivé.*

Contrôle

9[me] REPIQUAGE	TUBES	3-9	8-9	13-9	18-9	22-9	30-9
29 août 60	1 sang total	+	±	0			
souche :	1 bis sang total	+ +	±	0			
tube 4 bis du 23-8	2 sérum inactivé	+ + +	+ +	+ +	+ r	± r	0
sérum inactivé	2 bis sérum inact.	+ + +	+ +	+	0		

10[me] REPIQUAGE	TUBES	8-9	13-9	17-9	22-9	26-9
3 septembre 60	1 sang total	0	0	0		
souche :	1 bis sang total	0	0	0		conta-
tube 2 bis du 29-8	2 sérum inactivé	±	+ ±	+ +	±	mi.
sérum inactivé	2 bis sérum inactivé	+	+	0		

La culture par repiquage de sang total à sang total n'avait plus été possible dès le 6[me] repiquage.

« Elle persistait sur milieu au sérum inactivé », ce que confirment les 9[e], 10[e], 11[e] et 12[e] repiquages.

IV. Recherche de la température optima pour la culture de cette souche.

Le 4 octobre 1960, lors du 13[me] *passage*, le repiquage est fait sur une quantité suffisante de tubes afin de faire quatre lots différents, c'est-à-dire :

— 1 lot mis à cultiver à 20° C.

— 1 lot mis à cultiver à 25-27° C.

— 1 lot mis à cultiver à 28° C.
— 1 lot mis à cultiver à 37° C.

Dates des contrôles

T°	13me REPIQUAGE	TUBES	8-10	12-10	17-10		Observations
20° C	4 octobre 1960 (souche tube 2 bis du 26-9 sérum inactivé). Donneur n° 4.895	1 sang total 2 sér. inact. frais 3 sér. inact. frais + globules	0 0 0	0 0 0	0 0 0		Rien ne pousse
T°	13me REPIQUAGE	TUBES	10-10	17-10	24-10	29-10	
25-27°	— id. —	1 sang total 2 sér. inact. frais 3 sér. inact. frais + globules	+ ++ +	+ r ++ ++	0 + +	 0 0	r (rares) Culture convenable
T°	13me REPIQUAGE	TUBES	8-10	12-10	17-10	29-10	
28° C	— id. —	1 sang total 2 sér. inact. frais 3 sér. inact. frais + globules	+ + ++	+ 0 +	0 0 + r	0 0 0	Culture écourtée r (rares)
T°	13me REPIQUAGE	TUBES	8-10	12-10	17-10		
37° C	— id. —	1 sang total 2 sér. inact. frais 3 sér. inact. frais + globules	0 0 0	0 0 0	0 0 0		Rien ne pousse

— *au 14^me^ repiquage :*

Recherche précédente mais avec en plus des tubes de culture ayant 12 jours d'ancienneté.

T°	14me REPIQUAGE	TUBES	17-10	24-10	29-10	3-11
25-27° C	le 11 octobre 60 Souche : tube 2 bis du 4-10. sérum inactivé milieu du 29-9-60 Donneur n° 1.815	4 sér. inact. frais 5 sér. inact. frais + globules	+ + + + +	+ + +	+ 0	0

— Les 15^e^, 16^e^, 17^e^, 18^e^, 19^e^ repiquages ont confirmé que la température optima de cette souche était bien de 25 à 27° C.

Tous nos repiquages suivants (voir tableaux), qui nous permettront de continuer l'étude des variations morphologiques du parasite, seront conservés à l'étuve entre 25 et 27° C.

— *Arrivée au 20^me^ repiquage le 22 novembre* 1960, cette souche conservée au laboratoire depuis le 12 juillet (4 mois 10 jours) semble marquer un temps d'essoufflement, mais il est à noter que tout avait été fait avec du sang groupe O et Rh ⁻.

Voici le résultat de ce repiquage :

T°	20me REPIQUAGE	TUBES	28-11	5-12	12-12
25-27° C	le 22 novembre 60 (souches : tubes 1-2 du 15-11 sérum inactivé)	1 sér. inact. du 22-11	+	0	0
		2 sér. inact. du 22-11	+ r	0	0
		3 sér. inact. du 22-11 + globules	+ r	0	0
		4 sér. inact. du 15-11	+	0	0
		5 sér. inact. du 15-11	+ +	0	contam.
		6 sér. inact. du 15-10 globules	+	0	0

A ce moment la survie de cette souche paraissait bien compromise.

V. Culture avec les différents groupes sanguins.

Le 29 novembre nous reprenons nos repiquages en puisant dans nos anciennes cultures (repiquage n° 19 du 15-11) et faisant un lot de culture *avec tous les groupes sanguins* : O — A^1 — B — AB, tous Rh .

Ce procédé redonnera une activité surprenante à cette souche bien affaiblie (tableaux et histogrammes suivants) :

21[me] *repiquage.*

T°	REPIQUAGES	TUBES	5-12	12-12	22-12	29-12	5-1-61
	Le 29 novembre 60	1 sér. inact. frais du 29-11.	0	cont.			
	Souches:	2 sér. inact. frais du 29-11.	0				
	(tubes 4-5 du 15-11-60)	3 sér. inact. frais + gl. du 29-11. (O+)	+	0			
		4 sér. inact. frais du 22-11.	+	0			
		5 sér. inact. frais du 22-11.	0				
		6 sér. inact. frais + gl. du 22-11.	0				
		7 sér. inact. frais du 29-11.	0				
		8 sér. inact. frais du 29-11. (A'+)	+ +	+ + +	+	+	0
25-27° C		9 sér. inact. frais + gl. du 29-11.	+ +	+	0		
		10 sér. inact. frais du 22-11.	- -	0	0		
		11 sér. inact. frais du 29-11.	+ + +	-	0		
		12 sér. inact. frais du 29-11. (B+)	+ + +	+ +	cont.		
		13 sér. inact. frais + gl. du 29-11.	+ +	tubes utilisés pour 22° r			
		14 sér. inact. frais du 22-11.					
		15 sér. inact. frais du 29-11.	0				
		16 sér. inact. frais du 29-11.	0				
		17 sér. réact. frais + gl. du 25-11. (AB+)	0				
		18 sér. inact. frais du 22-11.	+	0			

Ce tableau laisserait supposer que le trypanosome de cette souche pousserait mieux où il ne rencontre qu'un seul anticorps avec un seul antigène à l'encontre des tubes où il existe deux anticorps ou deux antigènes.

Nous continuerons ainsi nos repiquages dont nous donnons les résultats dans les tableaux et histogrammes suivants.

22^{me} *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	12-12	22-12	29-12
	Le 6-12-60	O+	1 S.I.F. du 6-12.		r	0
			2 S.I.F. du 6-12.		contam.	
			3 S.I.F. gl. du 6-12	r	0	
	Souches:		4 S.I.F. du 29-11.		0	
	tubes 9, 10, 12,		5 S.I.F. du 22-11.		r	0
	13, 14	A^{1}+	6 S.I.F. du 6-12.	–	0	
	du 29-11-60		7 S.I.F. du 6-12.		0	
			8 S.I.F. glob.		0	
			9 S.I.F. du 29-11.			
			10 S.I.F. glob.	r	0	
			11 S.I.F. du 22-11.			0
25-27° C			12 S.I.F. glob.	r	0	
		B+	13 S.I.F. du 5-12.		r	0
			14 S.I.F. du 5-12.			0
			15 S.I.F. – glob.	0		
			16 S.I.F. du 29-11.			0
			17 S.I.F. glob.	– r	0	
			18 S.I.F. du 22-11.	–	–	0
			19 S.I.F. – glob.		0	
		AB+	20 S.I.F. du 6-12.	r	0	
			21 S.I.F. du 6-12.	0	contam.	
			22 S.I.F. glob.	0		
			23 S.I.F. du 29-11.	0		
			24 S.I.F. glob.	– r		

23me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 19-12	25-12	4-1-61
	Le 13-12-60	O+	1 S.I.F. du 13-12.	- -	- r	0
			2 S.I.F. du 13-12.		0	
			3 S.I.F. - glob.	-	0	
	Souches:		4 S.I.F. du 6-12.	-	0	
	Tubes 2-4 (O-AB)		5 S.I.F. glo.		0	
	12 (A)		6 S.I.F. du 13-12.		-	0
	16 (B)	A1+	7 S.I.F. du 13-12.	- - -		0
	du 6-12-60		8 S.I.F. glob.			cont.
			9 S.I.G. du 6-12.	-	0	
25-27° C			10 S.I.F. - glob.	-	r	0
		B+	11 S.I.F. du 13-12.	+	0	
			12 S.I.F. du 13-12.		- -	0
			13 S.I.F. - glob.	-	0	
			14 S.I.F. du 6-12.	-		0
			15 S.I.F. - glob.	- -	r	0
		AB+	16 S.I.F. du 13-12.		0	
			17 S.I.F. du 13-12.			
			18 S.I.F. - glob.		0	
			19 S.I.F. du 6-12.	-	0	
			20 S.I.F. glob.	-	0	

24me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 26-12	6-1	18-1
	Le 20-12-60	O+	1 S.I.F. du 20-12-60.	+ +	+ r	0
			2 S.I.F. du 20-12-60.	+ +	0	
			3 S.I.F. + glob.	+	0	
	Souches :		4 S.I.F. du 13-12.	+ +	cont.	
	Tubes 6-8 (O-A)		5 S.I.F. + glob.	+	0	
	8-12 (B)					
	8-17 (AB)	A1+	6 S.I.F. du 20-12.	+ +	0	0
	du 13-12-60		7 S.I.F. du 20-12.	+ +	+	
			8 S.I.F. + glob.	+ +	0	
			9 S.I.F. du 13-12.	+ + +	+ +	
25-27° C			10 S.I.F. + glob.	+	0	
		B+	16 S.I.F. du 20-12.	+ +	0	
			17 S.I.F. du 20-12.	+ +		
			18 S.I.F. + glob.	+		
			19 S.I.F. du 13-12.	+ + +	0	
			20 S.I.F. + glob.	+ +	0	
		AB+	11 S.I.F. du 20-12.	contam.		
			12 S.I.F. du 20-12.	contam.		
			13 S.I.F. + glob.	contam.		
			14 S.I.F. du 13-12.	+		cont.
			15 S.I.F. + glob.	0		

25me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 2-1-61	16-1	19-1
25-27° C	Le 27-12-60	O+	1 S.I.F. du 27-12-60.	+ r	0	
			2 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
			3 S.I.F. + glob.	+ +		
	Souches:		4 S.I.F. du 20-12.	+ +		
	Tubes:		5 S.I.F. + glob.	+ r	0	
	1-17-18 (O-AB)		6 S.I.F. du 13-12.	+ +	0	
	7-9 (A)		7 S.I.F. + glob.	+	0	
	19 (B)	A1+	8 S.I.F. du 27-12-60.	+ + +	+	0
	du 20-12-60		9 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
			10 S.I.F. + glob.	+	0	
			11 S.I.F. du 20-12.	+ +	+	0
			12 S.I.F. + glob.	+	0	
			13 S.I.F. du 13-12.	+ +	+ +	0
			14 S.I.F. + glob.	+	0	
		B+	15 S.I.F. du 27-12-60.	+ + +	+ +	0
			16 S.I.F. du 27-12-60.			
			17 S.I.F. + glob.			
			18 S.I.F. du 13-12.	+	cont.	
			19 S.I.F. du 13-12 + gl.	0		
			20 S.I.F. du 29-11.	0	cont.	
			21 S.I.F. du 22-11.	+ +		
		AB+	22 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
			23 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
			24 S.I.F. + glob.	+ r	0	
			25 S.I.F. du 20-12.	0		
			26 S.I.F. + glob.	0		
			27 S.I.F. du 13-12.	0	cont.	
			28 S.I.F. + glob.	0		

26me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 9-1	16-1	23-1
	Le 3-1-61.		1 S.I.F. du 3-1-61.			0
			2 S.I.F. du 3-1-61.			
	Souches:	O+	3 S.I.F. - glob.	r	0	
	Tubes:		4 S.I.F. du 27-12.		0	
	3-4 (O)		5 S.I.F. - glob.	0		
	8-13 (A)		6 S.I.F. du 13-12.			0
	16-17 (B)		7 S.I.F. du 3-1-61.		cont.	
	21 (AB)		8 S.I.F. du 3-1-61.		cont.	
			9 S.I.F. - glob.	r	0	
25-27°	du 27-12-60.	A1+	10 S.I.F. du 27-12.		r	0
C			11 S.I.F. du 27-12 gl.			0
			12 S.I.F. du 13-12.		cont.	
			13 S.I.F. du 3-1-61.			
			14 S.I.F. du 3-1-61.			0
			15 S.I.F. - glob.	0		
		B+	16 S.I.F. du 27-12.			0
			17 S.I.F. - glob.		0	
			18 S.I.F. du 13-12.			0
			19 S.I.F. du 27-12.			
		AB+	20 S.I.F. glob.	0		
			21 S.I.F. du 13-12.	-		

27me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 16-1	23-1	25-1
	Le 10-1-61.		1 S.I.F. du 24-1-61.	0		
			2 S.I.F. du 24-1-61.	0		
		O+	3 S.I.F. + glob.	0		
	Souches:		4 S.I.F. du 3-1.	+ r	0	
			5 S.I.F. + glob.	0		
	1 (O)		6 S.I.F. du 13-12-60.	0		
	6-13 (A)					
	11 (gl. AB)		7 S.I.F. du 10-1-61.	- + +	+ +	0
	14 (B)		8 S.I.F. du 10-1-61.	+	0	
	19 (AB)		9 S.I.F. + glob.	+ + +	+	0
		A1+	10 S.I.F. du 3-1.	+ r	0	
25-27°	du 3-1-61.		11 S.I.F. + glob.	+ + -	- -	0
C			12 S.I.F. du 13-12-60. +	+ +	0	
			13 S.I.F. du 10-1-61.	- - +	+ +	0
			14 S.I.F. du 10-1-61.			
			15 S.I.F. + glob.			0
		B+	16 S.I.F. du 3-1.	- +	- r	0
			17 S.I.F. + glob.	+	0	
			18 S.I.F. du 13-12-60.	+ r	0	
			19 S.I.F. du 10-1-61.	+	0	
			20 S.I.F. du 20-1-61.	+	0	
		AB+	21 S.I.F. + glob.	+ +	0	
			22 S.I.F. du 13-12-60.			

28me *repiquage.*

T°	REPIQUAGES		TUBES	DATES DU CONTROLE 23-1	25-1	30-1
25-27° C.	Le 17-1-61. Souches: Tubes: 1 et 2 (3-1) (O) 12-14 (A) 9-13 (B) 9-22 (AB) du 10-1-61.	O+	1 S.I.F. du 17-1-61.	0		
			2 S.I.F. du 17-1-61.	0		
			3 S.I.F. + glob.	0		
			4 S.I.F. du 10-1-61.	0	0	
			5 S.I.F. + glob.	+ r		
			6 S.I.F. du 27-12-60.	0		
		A1+	7 S.I.F. du 17-1-61.	0		
			8 S.I.F. du 17-1-61.	0		
			9 S.I.F. + glob.	0		
			10 S.I.F. du 10-1-61.	+ +	+ +	0
			11 S.I.F. + glob.	0		
			12 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
		B+	13 S.I.F. du 27-1-61.	+	0	
			14 S.I.F. du 27-1-61.	+	0	
			15 S.I.F. + glob.	0		
			16 S.I.F. du 10-1-61.	+ +	+	0
			17 S.I.F. glob.	+ r	0	
			18 S.I.F. du 27-12-60.	+	0	
		AB+	19 S.I.F. du 17-1-61.			
			20 S.I.F. du 17-1-61.	+ +	+ r	0
			21 S.I.F. + glob.	+ r	0	
			22 S.I.F. du 10-1-61.	+	+ r	0
			23 S.I.F. + glob.	+ r	0	
			24 S.I.F. du 27-12-60.	+ r	0	

En utilisant toujours les quatre grands groupes sanguins tout au long, nos constatations du 21^{me} passage se sont pratiquement confirmées (voir tableaux et histogramme ci-joints).

Nous arrivons ainsi au 28^{me} passage où *brusquement* notre souche présente des signes d'affaiblissement très marqués.

Le 29^{me} passage fait le 23 janvier 1961 :

en utilisant un mélange de tous les tubes du repiquage précédent, ayant présenté une culture positive (même faible), donne peu de résultat, la culture reste faible.

Nous faisons encore et toujours dans les mêmes conditions trois repiquages successifs. Après le 32^{me} *repiquage fait le 2 février* 1961 nous considérons notre souche comme perdue (voir tableaux suivants).

Celle-ci aura été conservée in vitro au laboratoire du 12 juillet 1960 au 2 février 1961 avec 32 repiquages.

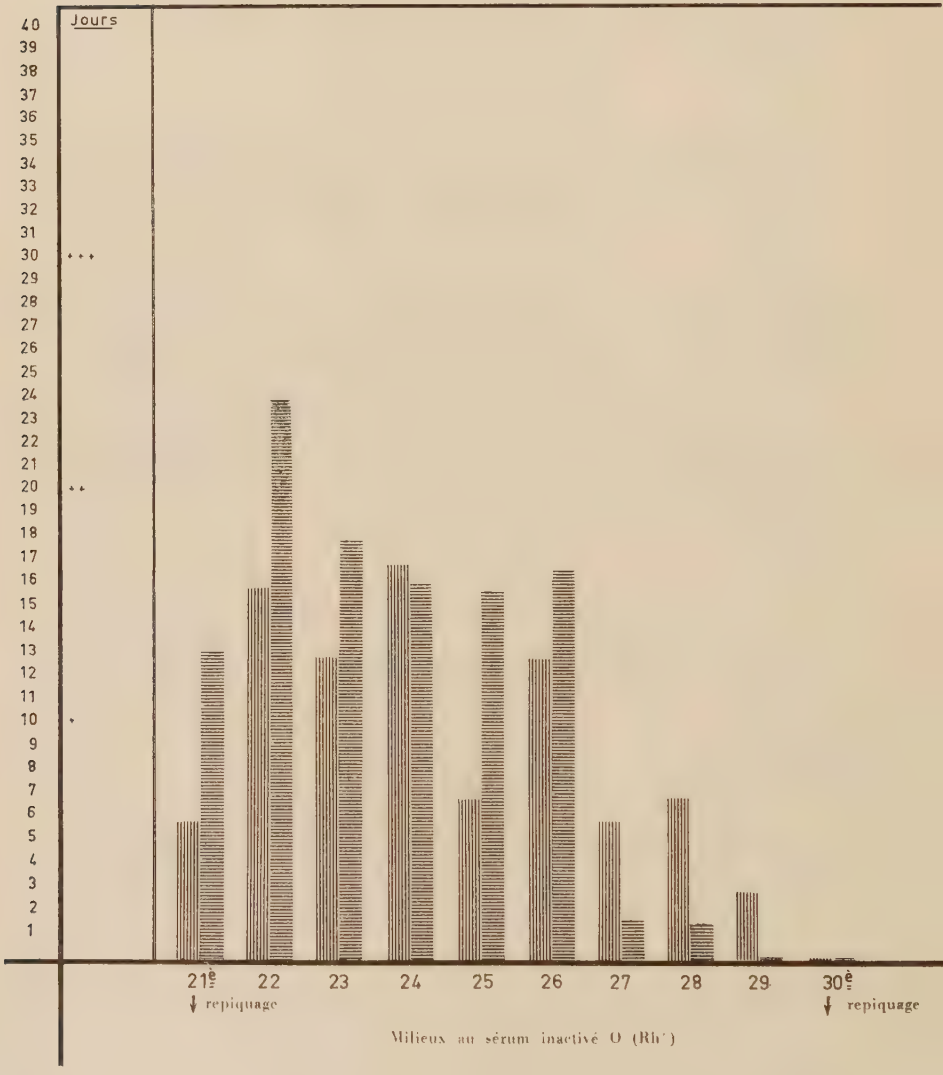
Repiquages : 29e, 30e, 31e et 32e.

T°	REPIQUAGE : 29me		TUBES	DATES DU CONTROLE 25-1	30-1	2-2-61
25-27° C	Le 23-1-61 Souches: Tubes 10-19 du 17-1-61	O+ A+ B+	25 S.I.F. du 3-1-61. 26 S.I.F. du 3-1-61. 27 S.I.F. du 3-1-61.	+ +	r 0	0
T°	REPIQUAGE : 30me		TUBES	30-1	2-2	4-2
25-27° C	Le 25-1-61 Souche Tube 25 du 23-1 Souches: mélange des tubes (+) des 10. 7-1-61	O+ A+ B+ AB+ O+ A+ B+ AB+	28 S.I.F. du 24-1-61. 28 S.I.F. du 24-1-61. 30 S.I.F. du 24-1-61. 31 S.I.F. du 24-1-61. 32 S.I.F. du 24-1-61. 33 S.I.F. du 24-1-61. 34 S.I.F. du 24-1-61. 35 S.I.F. du 24-1-61.	0 + 0 0 0 0 0 0	0 0 cont cont. cont.	
T°	REPIQUAGE : 31me		TUBES	2-2	4-2	6-2
25-27° C	Le 30-1-61 Souche Tube 21 du 25-1-61	A+ A+	36 S.I.F. du 17-1-61. 37 S.I.F. - gl. du 24-1.	+ r	r 0	0
T°	REPIQUAGE : 32me		TUBES	6-2	10-2	
25-27° C	Le 2-2-61 Souches: Tubes 36-37 du 30-1-61.	O+ A+ B+ AB+ A+ B+	1 S.I.F. du 1-2-61. 2 S.I.F. du 1-2-61. 3 S.I.F. du 1-2-61. 4 S.I.F. du 1-2-61. 5 S.I.F. + glob. du 1-2. 6 S.I.F. - glob. du 1-2.	0 0 t. r. 0 0 0	0	Très rares

Histogramme des cultures pour le groupe sanguin O (Rh⁻)

||||||| Durée de positivité des cultures.

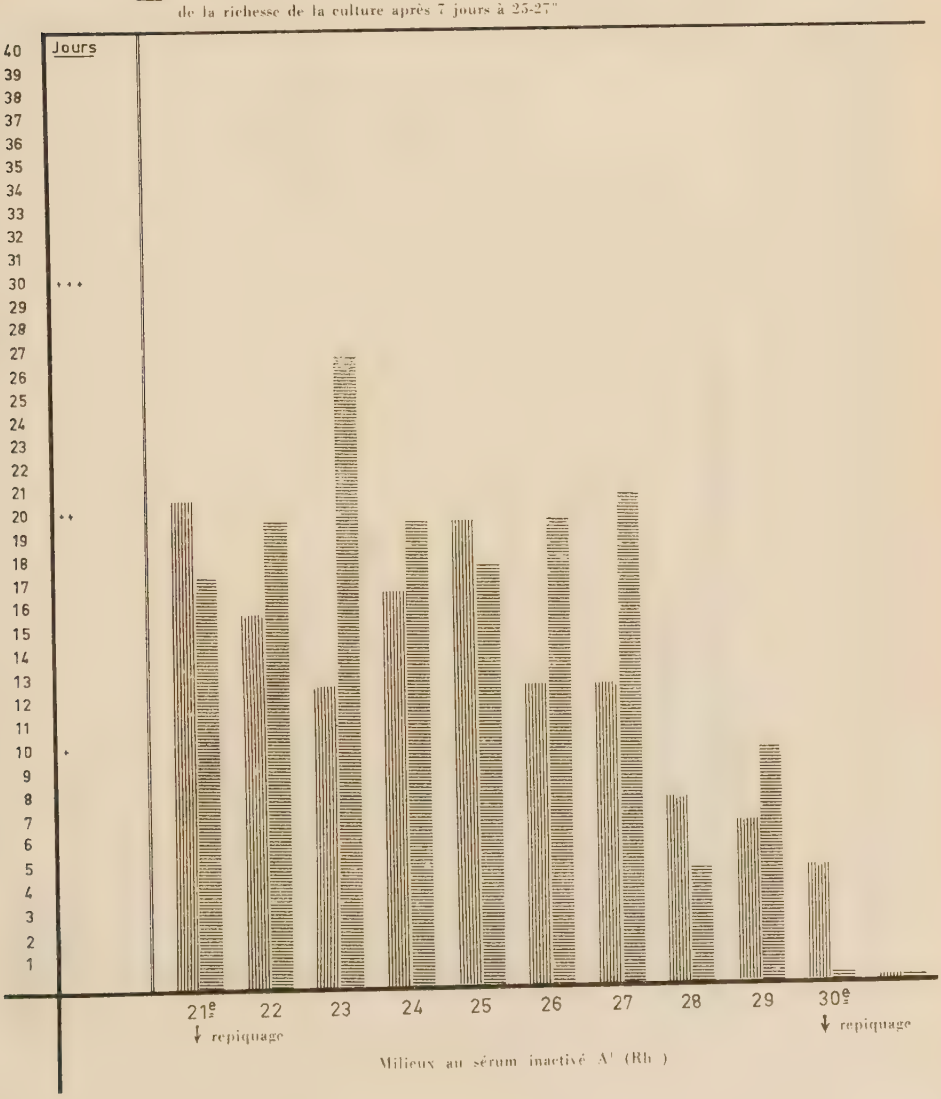
≡≡ Moyenne de positivité des cultures en fonction du nombre de tubes pour chaque repiquage et de la richesse de la culture après 7 jours à 25-27°



Histogramme des cultures pour le groupe sanguin A¹ (Rh)

Durée de positivité des cultures.

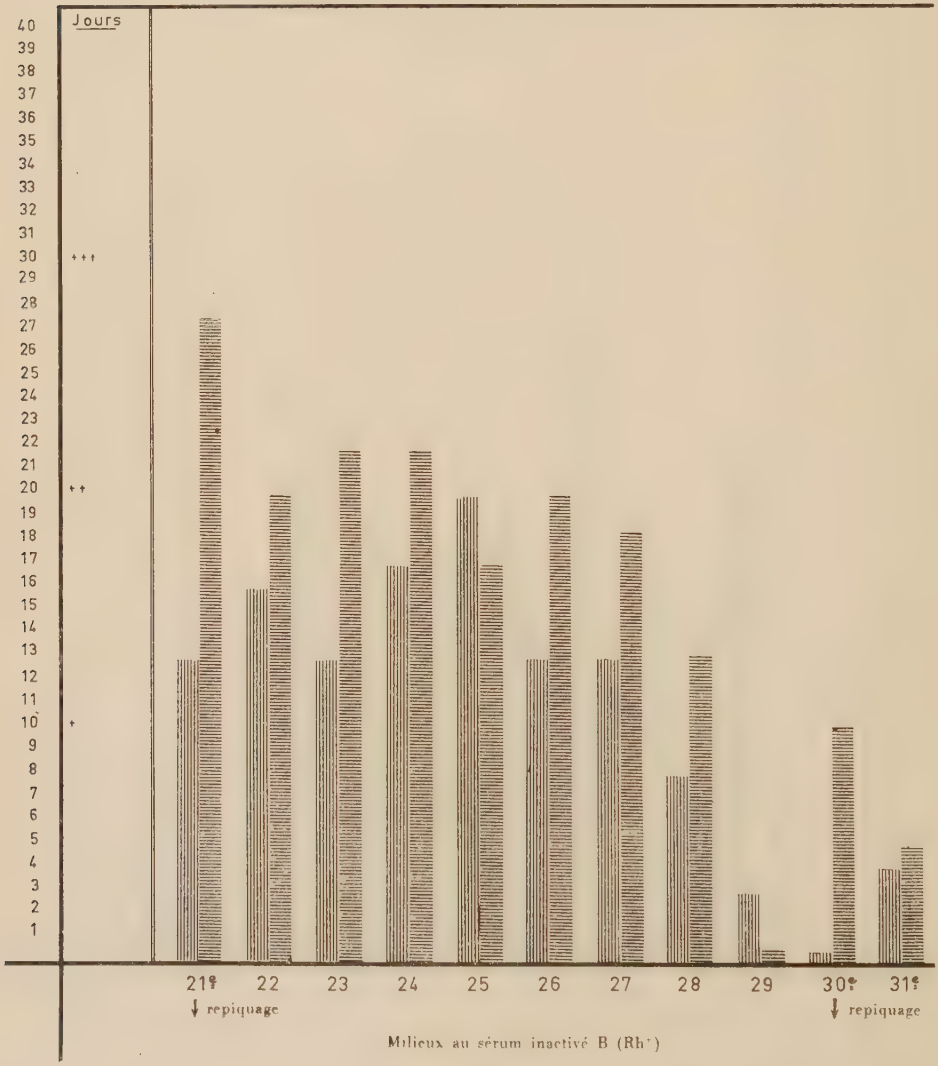
Moyenne d'intensité des cultures en fonction du nombre de tubes pour chaque repiquage et de la richesse de la culture après 7 jours à 25-27°



Histogramme des cultures pour le groupe sanguin B (Rh⁺)

Durée de positivité des cultures.

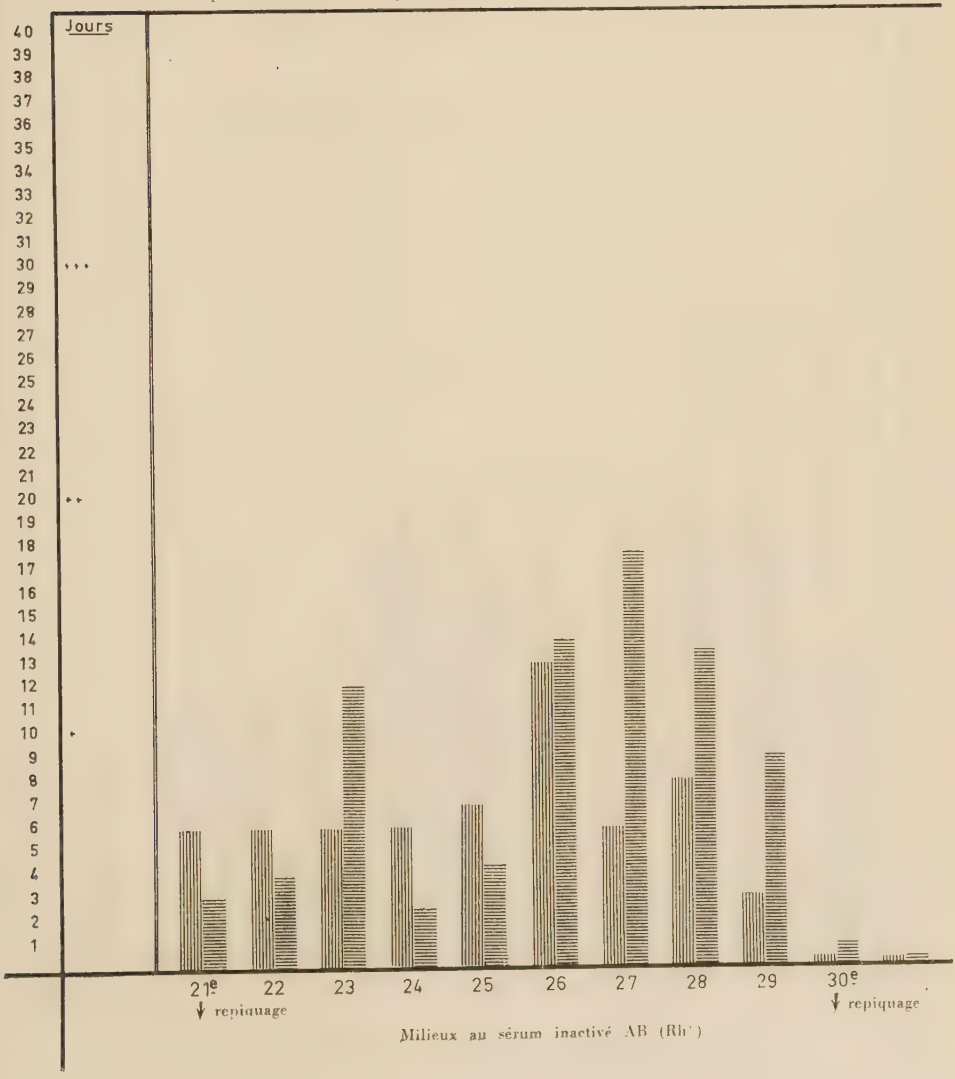
Moyenne d'intensité des cultures en fonction du nombre de tubes pour chaque repiquage et de la richesse de la culture après 7 jours à 25-27°



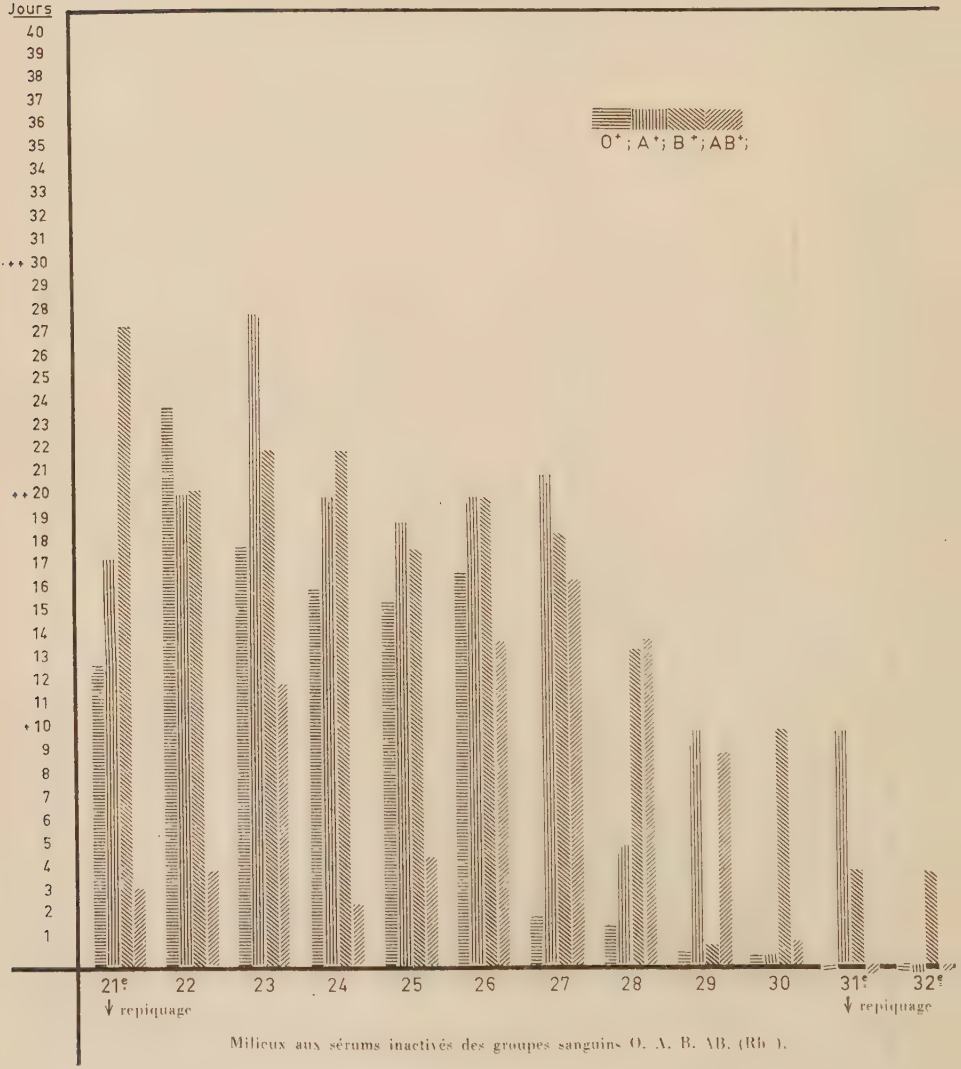
Histogramme des cultures pour le groupe sanguin AB (Rh⁻)

Durée de positivité des cultures.

Moyenne d'intensité des cultures en fonction du nombre de tubes pour chaque repiquage et de la positivité des cultures après 7 jours à 25-27° C.



Histogramme récapitulatif des moyennes de richesse des tubes en culture après 7 jours d'étuve à ± 25-27 C., pour les différents groupes sanguins O, A, B, AB, tous (Rh⁻).

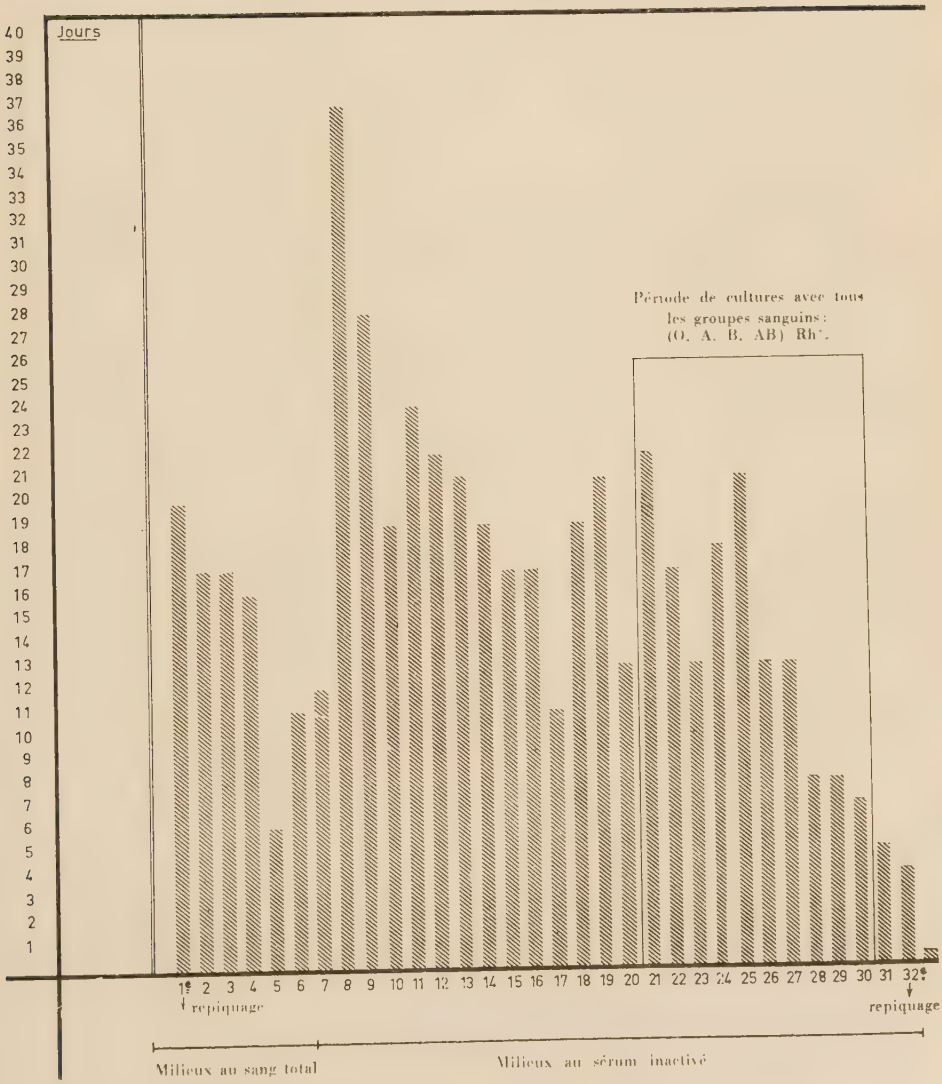


Milieux aux sérums inactivés des groupes sanguins O, A, B, AB, (Rh⁻).

Longévité des cultures.

Histogramme du jour de repiquage à la mort des cultures.

Ne tient pas compte des groupes sanguins.



Résumé des méthodes diverses de culture pour l'entretien et la survie de cette souche au laboratoire de Parasitologie

— *Première phase :* Du 1er repiquage (souche d'origine) jusqu'au 6me repiquage compris, soit du 12-7-60 au 17-8-60, nous avons utilisé le milieu au sang total non inactivé sans considération de groupe sanguin.

— *Deuxième phase :* Du 7me repiquage jusqu'au 20me repiquage inclus, c'est-à-dire du 17-8-60 au 22-11-60, nous avons utilisé soit le milieu au sérum inactivé (groupe O, Rh^+), soit au sérum inactivé (groupe O, Rh^+) additionné de purée globulaire.

— *Troisième phase :* Du 21me repiquage jusqu'au 32me et dernier repiquage, soit du 29-11-60 au 2-2-61, nous avons utilisé le milieu additionné de sang provenant de principaux groupes sanguins O, B, A, AB, tous Rh^+, en utilisant tantôt le sérum inactivé seul, tantôt le sérum inactivé additionné de purée globulaire.

Ces différentes phases de culture ont permis de constater que :

— pendant la première (milieu au sang normal) le polymorphisme n'était pas encore apparent ;

— pendant la deuxième phase, en particulier dans le milieu au sérum inactivé seul, la longévité était accentuée, le polymorphisme, très apparent, se maintenait désormais croissant. Ces deux constatations étaient moins nettes dans le milieu additionné de purée globulaire ;

— au cours de la troisième phase nous remarquons,

qu'en plus des constatations ci-dessus, le milieu était plus riche en parasites surtout lorsqu'il était additionné de sang A ou B (Rh^+) par comparaison au sang O et AB (Rh^+). Ce qui laisserait supposer que la présence d'un seul antigène (A ou B) favoriserait cette souche et que la présence de deux antigènes (AB) ou leur absence totale (O) ne serait pas aussi efficace.

Le chapitre suivant donne les résultats des variations morphologiques que nous avons obtenues.

CHAPITRE III

RESULTATS, VARIATIONS MORPHOLOGIQUES OBTENUES

A mesure de nos repiquages, nous procédions chaque fois :

1°) à une observation à l'état frais entre lame et lamelle sur microscoque à fond noir avec l'objectif 16/32 et l'éclairage 4 où les mouvements étaient toujours notables ;

2°) à un étalement de la culture sur lames numérotées que nous colorions au May-Grunwald Giemsa de la façon suivante :

- mettre 30 gouttes de May Grunwald,
- attendre 3 minutes,
- ajouter 40 gouttes d'eau distillée neutre,
- laisser reposer 7 minutes,
- préparer extemporanément une éprouvette de Giemsa, avec 2 millilitres d'eau distillée neutre, pour 4 gouttes de Giemsa par lame. Après avoir égoutté la lame, la recouvrir du Giemsa ainsi préparé et laisser reposer 20 minutes,
  puis laver et laisser sécher à la température du laboratoire.
  Remarque : au lavage, il faut frotter le revers de la lame avec du coton mouillé pour enlever toute trace de colorant.

Ensuite, nous observions la lame à l'immersion avec l'objectif 100/1.25 et l'éclairage 4 en dessinant chaque

fois les diverses formes du trypanosome rencontrées sur les différentes lames avec toutes leurs caractéristiques morphologiques (voir pages suivantes la nomenclature des lames et les dessins correspondants.)

Nomenclature des étalements sur lames de notre culture pour l'étude des variations morphologiques de Tr. gambiense *dans la lignée des repiquages.*

N° des LAMES	X	Y	MILIEUX (au sérum inactivé frais = S.I.F.)
1	8e	33 jours	S.I.F. milieu frais.
2	10bis	18 »	S.I.F. milieu frais.
3	11e	13 »	S.I.F. milieu frais.
4	14e	18 »	S.I.F. milieu de 19 jours d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.
5	15e	11 »	S.I.F. milieu frais.
6	15e	11 »	S.I.F. + globules.
7	16e	5 »	S.I.F. + globules.
8	17e	11 »	S.I.F. milieu frais.
9	18e	14 »	S.I.F. milieu de 23 jours d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.
10	18e	18 »	S.I.F. milieu de 7 jours d'ancienneté (tubes 3-11) et conservés à + 4° C jusqu'au repiquage.
11	18e	18 »	S.I.F. milieu de 7 jours d'ancienneté (tubes 29-10) et conservés à + 4° C jusqu'au repiquage.
12	19e	13 »	S.I.F. milieu frais.
13	24e	6 »	S.I.F. milieu frais.
14	26e	6 »	S.I.F. milieu frais.
15	25e	20 »	S.I.F. milieu frais.
16	26e	13 »	S.I.F. milieu de 21 jours d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.
17	29e	7 »	S.I.F. milieu de 20 jours d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.
18	30e	5 »	S.I.F. milieu de 1 jour d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.
19	31e	5 »	S.I.F. milieu de 1 jour d'ancienneté et conservé à + 4° C jusqu'au repiquage. conservé à + 4° C jusqu'au repiquage.

La lettre X indique le n° dans la chaîne des repiquages.
La lettre Y indique le nombre de jours de l'ensemencement du milieu de culture au moment de l'étalement.

Nous commençons l'étude des VARIATIONS MORPHOLOGIQUES seulement à partir du 8me repiquage parce que c'est à ce moment que, sous l'effet du vieillissement (33 jours à 25-27° C) de l'un de nos tubes de culture, que le polymorphisme du parasite nous a le plus frappé. Nous avons alors échelonné de 5 à 33 jours le vieillissement de nos différents tubes de culture pendant les repiquages suivants. Nous devons en outre signaler qu'à chaque repiquage nous ensemencions plusieurs tubes de culture et que nous choisissions pour le repiquage suivant le tube le plus riche en trypanosomes. Par ailleurs, à l'observation de nos lames, nous nous efforcions chaque fois à dessiner toutes les variations morphologiques rencontrées (voir planches) ce qui montre de ce fait, à côté des formes trypanosomiennes caractéristiques, les innombrables aspects du polymorphisme de *Trypanosoma gambiense*.

Nous n'avons pas, au cours de notre expérimentation, fait un essai de culture sur tissus embryonnaires où l'étude des préparations colorées montrerait certes un grand nombre de parasites intracellulaires dans tous les états intermédiaires entre la forme leishmanienne (latents bodies de Moore et Breuil) et la forme trypanosomienne caractéristique.

Nous étudierons donc la courbe d'évolution morphologique de *Trypanosoma gambiense* dans notre milieu de culture, suivant nos étalements sur lames dans la lignée de nos différents repiquages, tout en essayant de les interpréter.

Lame I : Les formes de la lame I résultent du 8me repiquage, dans le milieu au sérum inactivé frais, que nous avons gardé 33 jours à l'étuve (25 à 27° C). Sous l'effet du « VIEILLISSEMENT », la plupart des trypanosomes perdent leur « membrane ondulante » (A. B.

C, E), leur flagelle. « Le noyau », soit se met en arc (E), soit se scinde en deux (C) ou plusieurs fragments (A, B et F) simulant un début de division « schizogonique ». Dans ce dernier cas, le cytoplasme semble simultanément se vacuoliser (A, B et C) tout en se ramassant autour du noyau. Serait-ce un véritable début de « schizogonie » ou un simple « commencement d'enkystement » traduisant une réaction de défense contre les produits toxiques issus des perturbations du métabolisme ? La lame I montre en outre une forme « PROVENTRICULAIRE » sensiblement identique à celle rencontrée chez la glossine (voir figure 4, chap. I[er]). Dans tous les cas (E excepté) le cinétoplaste semble le dernier touché.

Lame II : Les formes de la lame II proviennent du repiquage 10 bis, au sérum inactivé frais, incubé 18 jours à l'étuve (25-27° C). Sous l'effet d'un vieillissement moins accusé, nous n'avons rencontré sur cette lame que la forme (A) très comparable à la forme binucléée (C) de la lame I à cette différence qu'elle n'a pas de vacuole et que son corps parabasal et son blépharoplaste, les deux éléments du cinétoplaste sont nettement distincts. Quant à la forme (B) elle nous semble identifiable à la forme « POSTERO-NUCLEAIRE » de la glossine (voir figure 4, chap. I[er]) à l'absence près de la membrane ondulante. Pour ce qui est de la forme (C) à corps nettement ramassé, elle simulerait plutôt les formes trapues (d. figure 4) du sang humain. Pour (D) à membrane ondulante très nette, à « grains de volutine » constituant deux agglomérats circulaires de part et d'autre du noyau, nous mettrons : trypanosome normal.

Lame III : Les formes que montre cette lame sont obtenues au 11[ème] repiquage en milieu au sérum inactivé frais conservé 13 jours à l'étuve (25-27° C). On y rencontre une forme (A) ayant toutes les caractéristiques

du genre Trypanosoma à l'exception près du noyau linéaire et de quelques vacuoles postérieurs. Deux formes « LEPTOMONAS » (B et C) ne différant l'une de l'autre que par l'épaisseur et l'étendue du noyau. Tandis que la forme amincie (D) à noyau nettement central, à membrane ondulante disparue (ce qui a provoqué la coupure du flagelle en moignons antérieur et postérieur) s'apparente nettement au genre Trypanosoma.

Lame IV : La forme présentée par cette lame a été trouvée au 14^{me} repiquage dans un milieu au sérum inactivé frais que nous avons d'abord, sans ensemencement préalable, laissé à + 4° C pendant 19 jours et que nous avons ensuite ensemencé et laissé incuber 18 jours à l'étuve (25-27° C). Celle-ci se particularise surtout par l'absence de noyau.

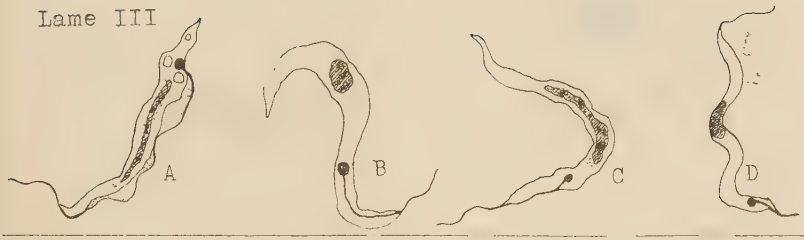
Lame V : Les formes en résultant proviennent du 15^{me} repiquage sur milieu fraîchement préparé et au sérum inactivé après une incubation de 11 jours à l'étuve (25-27° C). La forme (A) semble confirmer la théorie, classiquement admise par la plupart des auteurs, de la « DIVISION LONGITUDINALE BINAIRE » ici presque dans sa phase finale avec individualisation du second flagelle à partir du cinétoplaste fils. En ce qui est de la forme (B), elle nous montre les caractéristiques du type « CRITHIDIA » (voir figure 2, chapitre I^{er}) à savoir une simple portion de membrane ondulante au voisinage de la pointe antérieure qui se prolonge par un flagelle qui sort directement en avant. Nous faisons remarquer que l'existence du noyau en deux lobes et le peu de netteté du cinétoplaste l'éloignent du crithidia typique.

Lame VI : Le repiquage donnant les aspects de la lame VI a été fait exactement dans les mêmes conditions que la lame V précédente, à la seule différence que nous

Lame I

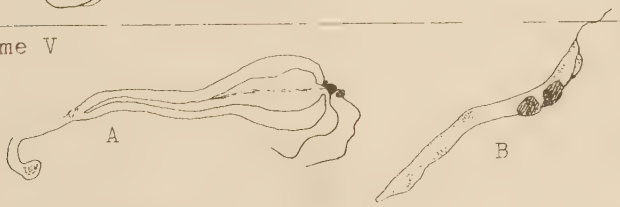
Lame II

Lame III



Lame IV

Lame V



Lame VI

Lame VII

Lame VIII

Lame IX

Lame X

Lame XI

Lame XII

Lame XIII

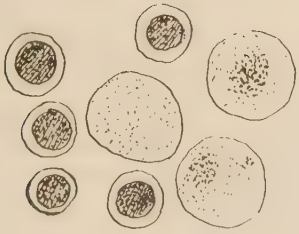
Lame XIV

Lame XV

Lame XVI

Lame XVII

Lame XIX



Lame XVIII

avons ajouté au milieu des globules de sang humain. Nous avons ainsi noté une réactivation des parasites devenus beaucoup plus mobiles à l'état frais, ce que confirment les formes trypanosomiennes caractéristiques à membrane ondulante très importante (B), cette dernière absente dans la forme (A).

Lame VII : Au 16me repiquage, que nous avons fait aussi en présence de globules, cette suractivation est tellement accusée que seulement 5 jours d'incubation à l'étuve (25-27° C) nous donnent des formes « de divisions trypanosomiennes ».

C'est ainsi que la forme (B) suivant les données classiques, a nettement divisé son noyau et son cinétoplaste, tandis que le cytoplasme est en voie de se scinder. Par contre, dans la forme (A), la division semble d'abord intéresser le cytoplasme. Tandis que la forme (D) montre deux trypanosomes accolés, de taille et de dimensions analogues avec l'un d'eux présentant « nettement » un début de réduction de chromatine nucléaire (aspect que l'un des parasitologues sud-américains de l'Ecole de Elkeles (17) affirme avoir rencontré dans des cultures de *Trypanosoma cruzi*). Il est à noter que pour ces derniers auteurs, il semblerait qu'il existe des phénomènes de sexualité chez les trypanosomes. La lame VII présente en outre des trypanosomes typiques (C) à noyau, cinétoplaste, grains de volutine, membrane ondulante et flagelle très nets.

Lame VIII : Formes obtenues au 17me repiquage sur milieu uniquement au sérum inactivé frais après incubation de 11 jours à l'étuve (25-27° C). Ces formes se caractérisent seulement par la séparation nette du blépharoplaste et du corps parabasal qui, dans la forme (B), semble se subdiviser en deux. L'absence de grains de volutine est aussi à remarquer dans cette forme (B).

Lame IX : Dans ce 18^{me} repiquage nous avons utilisé le milieu au sérum inactivé frais préalablement conservé 23 jours à + 4° C que nous avons ensuite ensemencé et incubé 4 jours à l'étuve (25-27° C). La forme de division intéressante que nous y observons montrerait-elle, du fait de l'existence de 3 fragments de noyau, le prélude d'une nouvelle division du trypanosome fils qui n'a même pas encore achevé sa séparation cytoplasmique ?

Lame X : La forme figurée à partir de cette lame a été, elle aussi, obtenue par un 18^{me} repiquage mais qui a été fait dans un milieu conservé 7 jours (au lieu de 2 jours comme ci-dessus) à + 4° C et que nous avons ensemencé et laissé incuber 18 jours (au lieu de 4) à l'étuve (25-27° C). Cette forme est particulièrement intéressante par son « NOYAU ANTERIEUR ».

Lame XI : Faite dans les mêmes colnditions que X mais à partir d'un autre tube de culture. Montre : une forme (A) amincie à noyau en arc ; une forme (B) repliée sur elle-même à grains de volutine plus nets ; une forme (C) à noyau central, avec sa partie antérieure mince et postérieure renflée.

Lames XII à XIX : Ces lames montrent les formes obtenues du 19^{me} au 31^{me} repiquages effectués dans des conditions semblables aux précédentes (voir nomenclature des étalements, page 66). Nous groupons ces dernières lames parce que le polymorphisme s'y réduit à trois aspects nets :

— l'existence de FORMES LARGES et GRASSES, quasi-immobiles : (A lame XII ; lame XVI ; lame XVII) formes dites « en bananes de Muniz » (43) et considérées comme des trypanosomes femelles par Ekeles (17) à propos de *Trypanosoma cruzi.*

— de FORMES MINCES ET EFFILEES (lame

XVIII) que Lu Chang (36), toujours à propos de *Trypanosoma cruzi*, qualifie de « leafshaped » qui seraient des formes crithidiennes différentes des formes habituelles et qu'on rencontrerait peu de temps avant la mort de la culture. Il faut noter que ces formes filamenteuses mobiles sont considérées par Elkeles comme des formes mâles de trypanosomes.

— de FORMES BI, TRI ou QUADRIFLAGELLEES à nombre de noyaux variant de 2 à 4 réalisant des figures de « somatelles ». Elles seraient des formes de divisions simultanées d'un trypanosome dont la séparation cytoplasmique est retardée.

— de FORMES ARRONDIES (lame XIX), les dernières que nous avons pu observer et que Lu Chang affirme avoir vues en même temps que des formes filamenteuses. Seraient-ce des formes kystiques de résistance ou de simples stades ultimes de dégénérescence ?

CONCLUSIONS

Au cours du vieillissement des cultures « in vitro », *Trypanosoma gambiense* adulte donne ainsi libre cours à son « polymorphisme » (voir planches ci-dessus, chapitre III). C'est alors que nous observons de multiples « variations MORPHOLOGIQUES » :

— des formes « LEPTOMONAS » différant parfois des formes habituelles des parasites de ce type par un noyau et un corps plus ou moins allongés ;

— des formes « CRITHIDIENNES » pouvant être effilées ou binucléées ;

— des formes « TRYPANOSOMIENNES CARACTERISTIQUES » à membrane ondulante et flagelle nets ;

— des formes en « DIVISION BINAIRE » :

— des formes « POSTERO-NUCLEAIRES » ;

— des formes « ANTERO-NUCLEAIRES » ;

— des formes TRAPUES et RAMASSEES du sang humain ;

— des formes « GRASSES et LARGES », ayant très souvent les caractères de trypanosomes adultes mais jamais de membranes ondulante et seulement parfois un reste de flagelle ;

— des formes « EFFILEES », filamenteuses, très rarement binucléées et semblant apparaître à l'approche du déclin de la souche ;

— des formes ACCOLEES avec l'une d'elles présentant un début de réduction chromatique ;

— des formes « PLURINUCLEES » à aspect syn-

citial semblant n'apparaître qu'après un vieillissement prononcé du parasite en culture ;

— des figures de « SOMATELLES » différant des précédentes par la taille et de nombreux flagelles ;

— des formes « ARRONDIES », les dernières que nous avons pu observer.

Ces « VARIATIONS MORPHOLOGIQUES » de notre souche de *Trypanosoma gambiense* nous permettent de conclure qu'en culture « in vitro » :

— le parasite peut passer par tous ses stades évolutifs LEPTOMONAS, CRITHIDIA. (Le stade « LEISHMANIA » pouvant certes être caractérisé par culture de tissus sur matériau embryonnaire) ;

— que ses formes « POSTERO-NUCLEAIRES » chez la glossine et celles « TRAPUES et RAMASSEES » du sang humain peuvent être rencontrées ;

— qu'il existe des formes en « DIVISION BINAIRE ».

Mais qu'auprès de ces éléments classiques on rencontre :

— des formes « antéro-nucléaires » assez rares ;

— des formes « GRASSES et LARGES » et des formes « FILAMENTEUSES », des « FORMES ACCOLEES » (dont une présente un début de réduction chromatique) et qui, pour les auteurs sud-américains Elkeles (17) ayant étudié des cultures de *Trypanosoma cruzi*, semblent être la preuve de la différenciation sexuelle des trypanosomes ;

— des formes « schizogoniques » obtenues par vieillissement et enfin des éléments ARRONDIS ; ces derniers seraient-ils les résultats de cette schiziogonie, seraient-ils des formes kystiques ou de dégénérescence ?

Vu : *Le Président de thèse*,
BOUISSET

Vu : *Le Doyen*,
Pour le Doyen, l'*Assesseur*,
DELAS

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 29 mai 1961

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN

BIBLIOGRAPHIE

1. Ansari (M.N.). — Culture et isolement de *L. Tropica*, leishmanisation prophylactique. *Arch. Inst. Henach.* Empire Iranien *2*, 31, 5 (1946).
2. Arnaud. — Procédé nouveau de culture *T. gambiense* sur milieux artificiels. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, t. XIV, p. 3 (1934).
3. Aschcraft (M.T.). — Polymorphisme du *Tr. brucei* et du *Tr. rhodesiense*. *Ann. Trop. Med. and Para.*, sept. 1957, *51*, n° 3.
4. Besenans (A.) et Witteballe (P.). — Aperçu sur l'historique des granules et de la phase dite invisible des spirochètes et des trypanosomes. *Bulletin Assoc. Dipl. Microbiol. Fac. Phar. Nancy*, p. 19-23 (1940).
5. Bonacci (H.). — Nouveau milieu de culture pour *T. cruzi*. *C.R. Soc. Biologie*, t. CVII, p. 242.
6. Bouisset (L.), Harant (H.) et Ruffié (J.). — Parasitose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum Dolflein*. T. XXXI n° 4 des *Ann. de parasitologie humaine et comparée*, 1956.
7. Brand (Von T.). — Studien über Kohlehydratst off wechsel parasitischer Protozoen II. Der Zucherstoffwechsel der Trypanosonen. *Ztschr. Verghich Physiol.*, t. XIX, p. 589-614.
8. Brumpt (E.). — Précis de parasitologie. T. I, Masson & C^ie^.
9. Buntsaert et Hézard (C.). — Cultures des trypanosomes pathogènes. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, *36*, t. XVI, n° 4 (1936).
10. Bent. — Incubation of Tsé-Tsé Pupos. *Ann. Trop. Med. parasitologique*, *18*, 1946.

11. Cappani (M.). — Sur un cas de trypanosomiase congénitale à Douala. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1953, t. *6*, n° 5, 667-670.

12. Colomb (H.), Gallais et Planques. — La trypanosomiase chez l'Africain transplanté. *Bull. Soc. Path. exot.*, sept-oct. 1956, *43*, n° 5.

13. Corson. — Heterogeneity of strains of polymorphic trypanosomes. *Trop. Dease, Bull.* 1946, *3*, 163.

14. David et Pape. — Deux cas d'heredo-trypanosomiase. *Revise. Med. Pharmac. et Veterinaire*, Afrique Franaçise (Brazzaville), 1942, *1*, n° 1, 92-94.

15. Depoux (R.), Merveille (P.) et Ceccaldi. — Etude de la fixation du complément dans la trypanosomiase humaine. *Ann. Inst. Past.*, nov. 1956, *91*, n° 5, 682-692.

16. Dubois A. — Au sujet du métabolisme des trypanosomes. *Ann. Soc. Belge Méd. trop.*, t. X, p. 446-447 (1930).

17. Elkeles (G.). — Investigaciones sobre la evolucion del Trypanosoma cruzi, especialmente sobre la genesis de la forma tripanosomica. *Boletin de la Academica Natinal de ciencias*, tomo XXXVI, entrega 4a, p. 333 à 348. Cordoba (Rep. Argentina) (1944).

18. Fereira (F.S.) et Rosario. — Un cas de trypanosomiase contractée par transfusion sanguine. *Gaz. med. Portuguesa*, 1951, *4*, 1030-1033.

19. Fulton (J.D.) et Stevens (T.S.). — The glucose metabolism « in vitro » of Trypanosoma rhodesiense. *Bioch. Journ.*, t. XXXIX, p. 317-320 (1945).

20. Gaschen. — Les glossines de l'A.O.F. *Acta-Tropica*, 1945, n° 2.

21. Gravilow et Laurencin (M^me^ S.). — Application d'une méthode de culture de tissus à l'étude des protozoaires. *Ann. Soc. Belge Méd. trop.*, t. XVIII, n° 1 (1938).

22. Gordsenhown et Schoennaerd (F.). — Sur la stabilisation des antigènes utilisés au séro-diagnostic des trypanosomiases. *Ann. Soc. Belge. Méd. trop.*, t. XXIV, 30 sept. 1944, p. 167.

23. Gueurdin (L.M.G.). — Action des antibiotiques sur les protozoaires. *Bull. Acad. Vétérinaires*, France, n° 20, nov. 1947.

24. Hoare (C.A.). — Révision de la classification des trypanosomes pathologiques africains. *Rapp. à la VII^e Réunion du Comité S.C. inter. recherche Tryp.* (CC.T.A. et B.P.I.T.T.) 1956.

25. Hoare (C.A.). — Classification des trypanosomes pathologiques pour hommes et animaux. *Veterinary rev. ann.*, *3*, 1957.

26. Jackson. — Comparative studies of the habitat requisements of Tsé-Tsé flye species. *Animal Ecology*. 1945, *46*.

27. Joyeux et Sice. — Précis de médecine coloniale. 3^e édition. Masson & C^ie, Paris 1944.

28. Kudicke et Evers. — Influence des sucres et alcools de la série des sucres de la mobilité des trypanosomes in vitro. *Zeitsch. f. Hyg.*, t. CI, p. 317 (1932).

29. Lalouel. — La trypanosomiase dans le bassin de l'Oubanghi. *Bull. Soc. pathologie exot.*, 1949, 229.

30. Launoy. — Nouveaux documents sur la prophylaxie chimique obtenue par voie buccale, chez le rat, contre l'infection à T. gambiense. *Bull. Soc. path. Escot.*, 1948, 464 et 1949, 240.

31. Lavier. — L'évolution de la morphologie dans le genre trypanosoma. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1942, 168.

32. Lépine (P.). — Culture de T. Lewisi en différents milieux au sérum et au sang. *C.R. Soc. Biologie*, t. XLIIII, p. 525 (1925).

33. Levaditti, Levanssen et Reinié (L.). — Ultra-virus et fluorescence. Comportement à l'égard du rayonnement ultra-violet en milieu fluorescent (trypanosomes, bactéries, enzymes). *C.R. Soc. biologie*, t. CXXXI, n° 17, p. 480 (1939).

34. Locatelli (P.). — Sur le métabolisme du glucose dans les trypanosomiases. *C.R. Soc. Biologie*, t. CV, p. 449 (1930).

35. Lourie (E.M.) and Yorke. — Studies in Chemiotherapy XXI the trypano-cidal action of certain acomatic diamidines. *Ann. trop. med.*, CXXXIII, p. 289-304.

36. Lu Chang (S.). — Studies on hemoflagellater (IV) observation concerning some biochemical activites in culture and respiration of three species of Leishmania and T. cruzi. *Journ. inf. Dis.*, t. LXXXII, mars-avril 48, p. 109-118.

37. Lwoff (M.). — Recherche sur le pouvoir de synthèse des flagelles trypanosomes. *Monographie de l'Institut Pasteur*, Paris, Masson édit. (1930).

38. Lwoff (A.). — Recherches biochimiques sur la nutrition des protozoaires. *Monographie de l'Institut Pasteur*, Paris, Masson édit. (1932).

39. Lwoff (A.). — La fonction du sang dans la culture des trypanosomes. *C.R. Soc. Biologie*, t. CXIII, p. 231 (1933).

40. Lwoff (M.) et Ceccaldi (J.). — Culture in vitro d'une souche de T. gambiense d'isolement ancien. *Bulletin Soc. path. Escot.*, t. XXXII, 12 juillet 1939, n° 7, p. 721.

41. Lwoff (M.), Bovet et Funke. — Action in vitro sur les trypanosomidés de quelques dérivés de l'éthylènediamine. *Bull. Soc. path. exot.*, t. XXXVII, n° 7-8, p. 229 (1944).

42. Molline. — Essai sur le cycle évolutif des spirochètes. Thèse de l'Université de Paris (Sennex, 1941).

43. Muniz (J.). — Quelques formes intéressantes trouvées dans les cultures de T. cruzi. *C.R. Soc. Biologie*, t. XCVII, vol. 2, p. 821 (1927).

44. Nasch. — L'éradication de gl. morsitans par le développement planifié d'un territoire. *Com. Sc. recherch. trypanos.*, 1949, 2, 1.

45. Neujean (G.) et Evens (F.). — Valeur pratique de l'hémoculture comme moyen de diagnostic dans la trypanosomiase humaine à T. gambiense. *Bull. Soc. path. exot.*, 1952, 45, 503-517.

46. Neujean (G.). — Prof. Université Liège: Trypanosomiases africaines. *Encyc. méd.*, 8095. Ann. (1959).

47. Neveu Lemaire (M.). — Traité de protozoologie médicale et vétérinaire. Vigot frères, Paris, 1943.

48. Noguchi (H.). — Action of certains biological, chemical and physical agents upon cultures of leishmania; some observations on plant and insect herpetomonas. *Stud. Rockfeller. Inst.*, t. LVII, p. 19 à 42 (1926).

49. Packanian (A.). — Cultures de sept espèces de trypanosomes in vitro. *Science*, t. LXXX, p. 407 (1934).

50. Packanian (A.). — On the viability of various species of trypanosoma and leishmania. *Journ. of parasit.*, t. XXIV, août 1943, p. 275.

51. Pavlow (P.). — Résistance des spirochètes et des trypanosomes dans le sang défibriné à la température ornaire. *Ann. paras.*, t. XVII, mai 1939, p. 262.

52. Pizzi (T.). — Penicilina en medico de cultivo para T. cruzi. *Biologica* (Chili), t. III, déc. 1945, p. 107.

53. Poirier (André). — Etude des cultures de Tryp. cruzi. Thèse pour obtention du Doctorat en Médecine, 1948.

54. Ponselle. — Culture des trypanosomes et les conditions physico-chimiques qui la déterminent. *Ann. parasit. humaine et comparée*, t. I, juin 1923, p. 181 à 183.

55. Ponselle (A.). — Culture des trypanosomes pathogènes. *C.R. Aca. Sciences*, t. CLXXVIII, p. 1219 (1924).

56. Razgha (Von A.). — Cultures des trypanosomes pathogènes pour l'homme. *Zeitschr. f. Parasit.*, t. II, p. 55 à 66 (1929).

57. Reichenow (E.). — Untersuchungen über das Verhalten von trypanosoma gambiense in menschlichen Körper. *Zeit. Hyg. Infektionsk*, *34*, 266-295 (1921).

58. Reichenow (E.). — Culture des trypanosomes pathogènes. *Arch. f. Schiff. und Troppen. Hyg.*, t. XXXVIII, p. 292-302 (1934).

59. Reynes et Trinquier. — Réflexions à propos des résultats de traitement de la trypanosomiase dans un centre de brousse. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1938, *31*, 955.

60. Reynes (V.). — Précis d'épidémiologie et prophylaxie des grandes endémies tropicales. Masson & C^ie^ éditeurs. Librairie de l'Acad. de Médecine, 1955.

61. Rodain (J.) et Van den Berghel (L.). — Inoculation de spirochètes et de protozoaires sur membrane chorio-allantoïdienne de poulet. *Ann. Soc. belge méd. trop.*, t. XXIII, p. 141 à 156 (1943).

62. Rodhain (J.), Gavrilow (W.) et Cowez (S.). — Sur le comportement de diverses espèces de trypanosomes de petits mammifères en présence de cultures de tissus. *Ann. Soc. belge méd. trop.*, t. XXI, p. 9.

63. Roubaud (E.). — A propos des caractéristiques raciales des souches de Trypanosoma gambiense. *Bull. soc. path. exot.*, 1944, *37*, 290-291.

64. Roubaud (E.). — Les recherches d'entomologie médicales relatives aux glossines et aux infections à trypanosomes en A.O.F. et A.E.F. *Comité scientirque de recherche des trypanosomes*, 1949, 12, 1.

65. Roubaud (E.). — Problème des races chez les trypanosomes. *Com. Sc. rech. tryp.*, 1949, 13, 1.

67. Scube (M.H). — Respiration des microbes. Respiration de T. lewisi et de L. tropica. *Journ. infect. diseases.*, t. XXXVI, mars 1925, p. 245-308.

68. Senekjie (H.A.) et Lewis (R.S.). — An inquiry into the grouth factor or factores of certain blood and tissue flagellates. *The Amer. journ. of trop. med.*, t. XXV, n° 4, p. 345-349 (1945).

69. Sice. — La trypanosomiase en Afrique intertropicale. (Vigot, 1937).

70. Stewart. — Eradication of glossina in the Noboggo Valley, Gold Coast. *Bull. Ent. Res.*, 1946, *99*.

71. Stroder (J.). — Influence de la compression sur les trypanosomes et l'évolution d'une infection. *Zeitsch. f. Immunitats*, t. LXXXXIII, juin 1938, p. 145-154.

72. Tasaka (M.). — Etudes cytologiques sur les trypanosomes de culture. *Fukuoka Acta medica*, t. XXVIII, p. 27 (1935).

73. Tow (N.). — Modification of the N.N. medium for cultivating Trypanosoma cruzi. *Suppl. Amer. journ. trop. med.*, t. XXIII, n° 6, nov. 1943, p. 615.

E74. Van Hoff et collab. — Irrégularités de la transmission par glossina palpalis de T. gambiense. *Trav. scient. méd. Congo Belge*, 1942, 69, et 1944, 204.

75. Villain. — De la répartition des glossines en A.O.F. *Bull. méd. A.O.F.*, 1948, 107.

76. Voucel. — Quelques observations et suggestions concernant la recherche de la maladie du sommeil. *Com. Sc. recherche tryp.*, 1949, *4*, 1.

77. Weiman (D.). — Cultivation of African sleeping sickness trypanosomes on improved simple, cell free medium. *Proc. Soc. exper. Biol. and med.*, 1947, t. 63, p. 456-458.

78. Yorke (M.), Adams (R.D.) and Murgatroyd (F.). — Studies in chemiotherapy : A. method for maintaining pathogenic trypanosomes alive « in vitro » at 37° C fort 24 hours. *Ann. Trop. Med.*, t. XXII, p. 501-518 (1929).

79. Zandergen (K.). — Trypanosomen en loge temperaturen. Thèse de Leyden, 1922.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos 9

Chapitre Phemier

Historique et revue des variations morpholigiques déjà connues de Trypanosoma gambiense 11

— Historique 11

— Variations morphologiques de *Trypanosoma gambiense* au cours de son cycle biologique et de sa reproduction 20

— Principaux milieux classiques de culture de *Trypanosoma gambiense*, leur insuffisance dans l'étude des variations morphologiques 31

Chapitre II

Exposé de notre expérimentation 35

— Souche 35

I. Contrôle d'inhibition des trypanosomes de cette souche 36

II. Essais de culture in vivo de cette souche de *Trypanosoma gambiense* 37

III. Culture in vitro de *Trypanosoma gambiense*.. 38

IV. Recherche de la température optima pour la

culture de cette souche 42

V. Culture avec les différents groupes sanguins. 45

— Résumé des méthodes diverses de culture pour l'entretien et la survie de cette souche au laboratoire de Parasitologie 63

Résultats : Variations morphologiques obtenues 65

Conclusions 77

Bibliographie 81